

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE BIOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**DISSERTAÇÃO**

Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos  
(Diptera: Culicidae) na Área da Reserva Biológica de  
Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do  
Rio de Janeiro

**CECILIA FERREIRA DE MELLO**

**2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**BIOECOLOGIA E VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE MOSQUITOS  
(DIPTERA: CULICIDAE) NA ÁREA DA RESERVA BIOLÓGICA DE  
POÇO DAS ANTAS, MUNICÍPIO DE SILVA JARDIM, ESTADO DO  
RIO DE JANEIRO**

**CECILIA FERREIRA DE MELLO**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Jeronimo Augusto Fonseca Alencar**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Ciências**, no  
Curso de Pós-Graduação em  
Biologia Animal, Área de  
Concentração em Biodiversidade

Seropédica, RJ

Julho de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pela autora

M527b Mello, Cecilia Ferreira, 1984-  
Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos (Diptera: Culicidae) na Área da Reserva Biológica de Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro / Cecilia Ferreira de Mello. - 2017.  
153 f.: il.  
Orientador: Jeronimo Augusto Fonseca Alencar.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Biologia Animal, 2017.  
1. Diversidade e distribuição local de Culicidae em Área de Preservação Ambiental do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. 2. Análise comparativa da ultraestrutura do ovo de diferentes populações geográficas de *Psorophora (Janthinosoma) ferox* (Diptera: Culicidae). 3. Ultraestrutura e Morfometria do ovo de *Psorophora albipes* (Theobald) 1907 . 4. Variação no DNA Mitocondrial Citocromo C Oxidase I de *Culex (Melanoconion) pedroi* e *Culex (Melanoconion) ribeirensis* . 5. Diversidade de mosquitos vetores da Febre Amarela na Mata Atlântica do Rio de Janeiro, Brasil. I. Alencar, Jeronimo Augusto Fonseca , 1968-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Biologia Animal III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**CECILIA FERREIRA DE MELLO**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de Concentração em Biodiversidade.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/07/2017

---

Jeronimo Augusto Fonseca Alencar Dr. - IOC/FIOCRUZ

---

Jacenir Reis dos Santos-Mallet Dra. - IOC/FIOCRUZ

---

José Mario D'Almeida Dr. - Departamento Biologia Geral/UFF

## DEDICATÓRIA

Dedicar é sem dúvida uma forma de demonstrar amor e apesar de minha não religiosidade, mas enorme espiritualidade, dedico esse trabalho a um Deus chamado Jeová que me conecta a um lugar da mais profunda paz e me faz sentir que existe um sentido oculto para cada pequeno movimento que ocorre no Universo.

A minha mãe Zenair Pereira, obrigada por todo exemplo de determinação, sua força me orgulha, seu amor me faz flutuar em uma nuvem de paz, amo tanto você minha mãezinha querida!

Ao meu pai Francisco Ferreira, que curtia e ainda curte todos os campos e descobertas através das fotos, fico muito feliz por dar tanto valor ao meu trabalho, esse espírito de aventura com certeza herdei de você!

Ao meu avô Francisco Ferreira, são 84 anos de histórias que eu gosto de parar e ouvir, agradeço por esses momentos tão valiosos para meu coração, vozinho, sei que é inevitável que o tempo passe, mas faço questão de aproveitar cada segundo ao seu lado.

Agradeço também a minha avó Maria da Pureza, que me fez entender que o sentido da vida é tão somente contribuir para a felicidade das outras pessoas, ela contribuiu com a minha, saudades eternas desse raio de luz que fez parte da minha história.

Também agradeço demais a minha avó Therezinha de Jesus, pelos poucos, mas grandiosos momentos em família, eu tenho muito amor por você, minha rainha.

A minha mana, Camila Ferreira, que orgulho da minha advogada profissional, suas conquistas são minhas também, te amo.

Ao meu amor Marcio Aurélio, que sem dúvida, teve uma grande participação nessa conquista, compreender que a minha profissão exige o desafio da distância foi para mim de valor inestimável, amor, amanhecer cada dia ao seu lado e manter por ti o mesmo olhar todas as manhãs, saber respirar a beira da raiva e reaprender a te amar a cada segundo, é o significado do meu "SIM" dito a você. Te amo cada dia mais!

A minha sogra Bela Salça, 84 anos e muita arte, você me deu muito trabalho durante o período de fechamento dessa dissertação, mas quer saber a verdade? Cuidar de você só me fez te amar ainda mais!

Agradeço também a minha preciosa amiga, Marcela Peixoto, futura dentista, a mais palhaça que eu já conheci, sempre presente em minha vida, amiga, fico tão feliz por você ter se encontrado, amo tanto você e sou tão grata por você existir!

Vocês são essenciais para minha vida, eu amo muito o que eu faço, mas amo principalmente vocês que me fazem ser quem eu sou, e por isso dedico essa conquista a vocês que fazem-me sentir maior e mais forte, ter o amor de vocês é ter tudo que preciso!

## AGRADECIMENTOS

Ninguém faz nada sozinho... Tem um bom tempo que ouço essas palavras e cada vez mais aprendo com você que precisamos dos outros para sermos nós mesmos, que o trabalho em equipe é o que diferencia na obtenção de resultados.

Meu orientador e sobretudo meu grande e melhor amigo, é muito difícil transformar sentimentos em palavras, mas aqui tento deixar registrado o quanto você é importante na minha vida profissional, o quanto você foi imprescindível para a realização deste trabalho e o quanto sou grata por seus ensinamentos, orientações, palavras de incentivo, puxões de orelha, paciência e dedicação, além da indiscutível amizade, liberdade e confiança referente ao presente estudo. Tudo isto compôs uma somatória fundamental não só para a construção do pensamento que se traduz nas páginas deste longo texto hoje entregue, mas como para a maturidade de toda uma vida a seguir. Todo esse trabalho diz muito sobre mim e também sobre você. Determinação, coragem e total falta de talento para desistir de um objetivo tem a ver com a nossa capacidade de ser positivos, de acreditar sempre. Ao longo de todos esses anos de trabalho que se iniciaram ainda na graduação eu obtive experiências enriquecedoras e de plenas superações. Sem sua orientação, apoio, confiança e amizade, não somente neste trabalho, mas em todo o caminho percorrido até aqui, nada disso seria possível. Por isso a você minhas reais manifestações de admiração, respeito e carinho. Um misto de simplicidade e competência.

Realmente o processo de escrita de uma dissertação de mestrado está muito longe de ser solitário, por isso tenho grande prazer em agradecer a diversas pessoas que igualmente ajudaram durante o seu decorrer.

Ao chefe do Laboratório Díptera, Anthony Érico Guimarães pelo apoio nas coletas de campo, um muito obrigado.

Ao professor Rubens Pinto de Mello pela colaboração na leitura dos manuscritos, seus comentários foram de tamanha importância.

Ao Dr. Hécio Reinaldo Gil-Santana pela colaboração na identificação dos espécimes de mosquitos, sua parceria foi fundamental.

A amiga Gisele Almeida, tudo que fez por mim durante a graduação reflete hoje na minha vida profissional, serei eternamente grata.

Ao Dr. William Costa Rodrigues, Dra. Raquel Miranda Gleiser e Dra. Júlia dos Santos Silva pelo auxílio na estruturação das análises estatísticas.

Ao professor Francisco Gerson Araújo, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, obrigada pela indicação ao Programa E\_01/2017 - Bolsa Nota 10 - Mestrado - Edição Março – 2017.

À banca examinadora, Dr. José Mário D’Almeida e Dra. Jacenir Reis dos Santos-Mallet por todas as contribuições e correções neste referido trabalho, álias, um sincero abraço de gratidão a Dra. Jacenir, foi uma honra poder compartilhar de seus conhecimentos, seja durante suas disciplinas ou na Plataforma de microscopia eletrônica de varredura, admiro muito seu coração.

Um muito obrigado a todos os colegas de laboratório pela parceria e colaboração: A bióloga Daniele Maia, por toda dedicação no campo e na bancada e pela disposição em ajudar a todo corpo discente, você realmente sabe o que é ser altruísta, Dani tenho muito orgulho de você.

À Thaiuana Castro, pela cooperação na organização dos espécimes e do banco de dados.

À Shayenne Osson, Aline Tátilla, Juliana Sarmento, Andressa Araújo, Jean Jules e Thamiris, obrigada pela colaboração e boa convivência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por me oportunizar um aperfeiçoamento gratuito e de excelência, além de colaborar financeiramente na elaboração dos artigos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa concedida (Nº1539342) e a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo auxílio financeiro desse trabalho o qual faz parte do Projeto de Pesquisa Edital: 12/2014 - Modalidade BIOTA Processo E-26/010.001630/2014 concedido no nome de Jeronimo Augusto Fonseca Alencar, tal apoio foi de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.

A Fundação Oswaldo Cruz, juntamente com o Laboratório de Diptera por permitir a utilização de sua estrutura física.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade e a Reserva Biológica Poço das Antas pela autorização de coleta, captura e transporte de material zoológico (Nº 44333-1).

Enfim, agradeço a todos que participaram de forma ativa direta ou indiretamente nas diversas fases dessa trajetória colaborando assim para tantas publicações.

"O Mestre na arte da vida faz pouca distinção entre o seu trabalho e o seu lazer, entre a sua mente e o seu corpo, entre a sua educação e a sua recreação, entre o seu amor e a sua religião. Ele dificilmente sabe distinguir um corpo do outro. Ele simplesmente persegue sua visão de excelência em tudo que faz, deixando para os outros a decisão de saber se está trabalhando ou se divertindo. Ele acha que está sempre fazendo as duas coisas simultaneamente."

(Texto Zen-Budista)

## RESUMO

MELLO, Cecília Ferreira. **Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos (Diptera: Culicidae) na Área da Reserva Biológica de Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro** 2017. 153p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) Instituto de Biologia e da saúde, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

**Introdução:** O conhecimento da biodiversidade e ecologia dos mosquitos em áreas do domínio de Mata Atlântica é extremamente importante para avaliar mudanças no padrão das atividades de suas populações, até então considerados como de hábito preferencialmente silvestre, modificações ambientais causadas por atividades humanas acarretam alterações nas populações de vetores de mosquitos, e as espécies silvestres adaptam-se à criação em áreas urbanas. Estudos relacionados a morfologia e identidade taxonômica também são muito importantes uma vez que facilitam na identificação de representantes das espécies de Culicidae pertencentes a diferentes complexos e ainda contribuem para a compreensão da biologia das espécies e sistemática do grupo. Além da morfologia clássica, microscopia eletrônica de varredura e morfometria, ferramentas bioquímicas e de biologia molecular tem auxiliado na separação de espécies crípticas e estudos da interação entre elas. Análise a nível molecular das populações tropicais, as quais compõem a família Culicidae é de suma importância, pois ainda não se tem o conhecimento suficiente sobre a variabilidade morfológica e genética de várias espécies e correta identificação desses indivíduos constitui a base fundamental para construir conhecimentos em ecologia e outras áreas da biologia. Falhas na diferenciação e identificação de espécies podem levar a difundir e amplificar erros conceituais e metodológicos em outras áreas que podem ter implicações não só no nosso conhecimento sobre a natureza, mas na estrutura e no funcionamento do ecossistema, nas decisões de manejo e de programa de saúde humana. **Objetivos:** Estudar a diversidade, ecologia, morfologia e a identidade taxonômica dos culicídeos em áreas do domínio de Mata Atlântica da Reserva Biológica de Poços das Antas (RbioPA), Estado do Rio de Janeiro. **Métodos:** Para captura de adultos de Culicidae foram utilizadas CDCs automáticas com CO<sub>2</sub>, Shannon e capturador de Castro. Foram calculados índices de diversidade, equidade, riqueza e dominância, realizadas avaliações e comparações de diferenças na composição da comunidade de mosquitos em cada área e ainda, analisado a possível influência das variáveis climáticas. Ovos obtidos a partir de fêmeas de *Psorophora ferox* e *Ps. albipes* foram fotografados e submetidos a análise morfométrica. As espécies *Culex pedroi* e *Cx. ribeirensis* foram validadas através da análise da variação do DNA mitocondrial citocromo c oxidase I (COI). Também foram utilizadas armadilhas de ovitrampas que além de instaladas na RBioPA, foram introduzidas nas áreas do Parque Nacional de Itatiaia (PARN-Itatiaia) e na Reserva Particular do Patrimônio Natural de Bom Retiro (RPPNBR). **Resultados:** No total foram capturados 15.700 espécimes de Culicidae de duas subfamílias, 12 gêneros e 41 espécies através das armadilhas luminosas e capturador de Castro. As espécies mais representativas foram: *Coquillettidia chrysonotum*, *Mansonia titillans* e *Cq. venezuelensis*. Os índices de diversidade demonstraram que as armadilhas luminosas de CDC apresentaram maior diversidade, riqueza e equidade, a dominância foi maior no ponto com maior concentração de plantas endêmicas. A abundância dos culicídeos correlacionou-se

positivamente com a temperatura. A ornamentação do exocório das populações de *Ps. ferox* obtidos na ReBioPA diferiram dos ovos de populações da Flórida e Trinidad. Os ovos de *Ps. albipes* apresentou um contorno elíptico com um comprimento médio de  $538,67 \pm 69,89 \mu\text{m}$  e largura de  $157,66 \pm 23,12 \mu\text{m}$  e índice médio de  $3,42 \pm 0,07 \mu\text{m}$ . O revestimento externo dos ovos é regular, com células coriônicas alongadas que variam em tamanho. As células têm principalmente uma forma pentagonal, mas algumas têm uma forma elíptica. O disco micropilar apresenta pequenas irregularidades no contorno, escavações na borda com o centro levemente levantado e um micropólio com formato de cruz. Nas armadilhas de ovitrampa, coletamos 2.162 espécimes Culicidae. As espécies mais encontradas foram *Haemagogus janthinomys* e *Hg. leucocelaenus*, ambos vetores do vírus da febre amarela silvestre. **Conclusões:** Considerando fortemente a diversidade de espécies de mosquitos na ReBioPA, PARNA-Itatiaia, RPPNBR e o seu papel potencial para transmissão de patógenos, combinado com um fluxo intermitente de visitantes nas áreas de estudo, e em torno dessas reservas, reforça que a atividade de vigilância entomológica deve ser contínua nas regiões estudadas. A ferramenta de MEV contribuiu para observar dissimilaridade na morfologia do exocório das populações de *Ps. ferox* das três regiões geográficas, e poderá colaborar no esclarecimento do status taxonômico e populacional de espécies de culicídeos. O conhecimento completo da morfologia do ovo das espécies de Culicidae através da MEV é útil para correlacionar sua estrutura fina com diferenças consistentes e não discerníveis observadas sob um microscópio estereoscópico e pode auxiliar na discriminação de espécies. O COI demonstrou ser um marcador molecular útil para a identificação de *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis* e, assim sendo, apoia os sistemas de identificação baseado em estudos morfológicos de SALLUM; FORATTINI, 1996

**Descritores:** Biodiversidade, Mosquito, Ecologia, Unidade de conservação, Microscopia eletrônica de varredura, Aedini, morfometria, ovo, *Psorophora albipes*, citocromo c oxidase I, taxonomia, filogenia, *Culex pedroi*, *Culex ribeirensis*, *Haemagogus*, Febre amarela, Ovitrapas.

## ABSTRACT

**MELLO**, Cecilia Ferreira. **Bioecology and Entomological Surveillance of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Poço das Antas Biological Reserve Area, Silva Jardim Municipality, Rio de Janeiro State, Brazil** 2017. 153p. Department of Animal Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil, 2017.

**Introduction:** Knowledge of the biodiversity and ecology of mosquitoes in areas of the Mata Atlântica domain is extremely important to evaluate changes in the pattern of activities of their populations, hitherto considered to be habitually wild, environmental changes caused by human activities lead to changes in populations mosquito vectors, and wild species adapt to breeding in urban areas. Studies related to morphology and taxonomic identity are also very important since they facilitate the identification of representatives of Culicidae species belonging to different complexes and also contribute to the understanding of species biology and group systematics. Besides classical morphology, scanning electron microscopy and morphometry, biochemical tools and molecular biology have aided in the separation of cryptic species and studies of the interaction between them. Analysis at the molecular level of the tropical populations, which make up the Culicidae family, is of great importance, as we do not yet have sufficient knowledge about the morphological and genetic variability of several species and correct identification of these individuals constitutes the fundamental basis for building knowledge in ecology and other areas of biology. Failures in species differentiation and identification may lead to the diffusion and amplification of conceptual and methodological errors in other areas that may have implications not only in our knowledge of nature but in ecosystem structure and functioning, management decisions, and human health.

**Objectives:** To study the diversity, ecology, morphology and taxonomic identity of Culicidae in areas of the Atlantic Forest domain of the Poços das Antas Biological Reserve (RbioPA), State of Rio de Janeiro. **Methods:** Culicidae adults were captured using automatic CDCs with CO<sub>2</sub>, Shannon and Castro grabber. Diversity, equity, wealth and dominance indexes were calculated, assessments and comparisons of differences in the composition of the mosquito community in each area were carried out, as well as the possible influence of climatic variables. Eggs obtained from females of *Psorophora ferox* and *Ps. albipes* were photographed and submitted to morphometric analysis. The species *Culex pedroi* and *Cx. ribeirensis* were validated through the analysis of mitochondrial DNA cytochrome c oxidase I (COI). Traps of ovitraps that were installed in the RBioPA were also introduced in the areas of the Itatiaia National Park (PARNA-Itatiaia) and the Private Reserve of the Natural Heritage of Bom Retiro (RPPNBR). **Results:** A total of 15,700 specimens of Culicidae from two subfamilies, 12 genera and 41 species were captured through the luminous traps and capture of Castro. The most representative species were: *Coquillettidia chrysonotum*, *Mansonia titillans* and *Cq. venezuelensis*. The diversity indexes showed that the CDC luminous traps showed greater diversity, richness and equity, dominance was higher at the point with the highest concentration of endemic plants. The abundance of culicidae correlated positively with temperature. The ornamentation of the exocoria of the populations of *Ps. ferox* species obtained in ReBioPA differed from eggs from populations in Florida and Trinidad. The eggs of *Ps. albipes* presented an elliptical contour with an average length of  $538.67 \pm 69.89 \mu\text{m}$  and a width of  $157.66 \pm 23.12 \mu\text{m}$  and a mean index of  $3.42 \pm 0.07 \mu\text{m}$ . The outer shell of the eggs

is regular, with elongated chorionic cells that vary in size. The cells mainly have a pentagonal shape, but some have an elliptical shape. The micropillary disk has small irregularities in the contour, excavations at the edge with the center slightly raised and a micropolis with cross-shaped. In the traps of ovitrampa, we collected 2,162 Culicidae specimens. The most common species were *Haemagogus janthinomys* and *Hg. leucocelaenus*, both vectors of the wild yellow fever virus. **Conclusions:** Considering the diversity of mosquito species in ReBioPA, PARNA-Itatiaia, RPPNBR and its potential role for the transmission of pathogens, combined with an intermittent flow of visitors in the study areas, and around these reserves, reinforces that the activity of entomological surveillance should be continuous in the regions studied. The SEM tool contributed to observe dissimilarity in the exocular morphology of the populations of *Ps. ferox* of the three geographic regions, and may collaborate in clarifying the taxonomic and populational status of culicidae species. Full knowledge of the egg morphology of Culicidae species through SEM is useful to correlate their fine structure with consistent and non discernible differences observed under a stereoscopic microscope and may aid in species discrimination. The IOC has been shown to be a useful molecular marker for the identification of *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis* and, therefore, supports identification systems based on morphological SALLUM; FORATTINI, 1996.

**Keywords:** Biodiversity, Mosquito, Ecology, Conservation unit, Scanning electron microscopy, Aedini, morphometry, egg, *Psorophora albipes*, cytochrome c oxidase I, taxonomy, phylogeny, *Culex pedroi*, *Culex ribeirensis*, *Haemagogus*, Yellow fever, Ovitrampas.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Subfamílias, tribos, gêneros, subgêneros, número de espécies e distribuição de Culicidae.....	3
<b>Tabela 2.</b> Classificação de criadouros de Culicidae. ....	5
<b>Tabela 3.</b> Descrição das Unidades de Conservação de Proteção Integral por categoria e origem.....	9
<b>Tabela 4.</b> Descrição das Unidades de Conservação de Uso Sustentável por categoria e origem.....	10
<b>Tabela 5.</b> Unidades de Conservação nas esferas Federal, Estadual e Municipal (CNUC/MMA 2017).....	12
<b>Tabela 6.</b> Pontos de capturas georeferenciados na Reserva Biológica de Poço das antas.....	29

### Capítulo I

<b>Tabela I. 1.</b> Abundância relativa de adultos de Culicidae coletados por método armadilhas do tipo CDC, Shannon e EOAM na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, no período de junho de 2014 a junho de 2015 .....	64
<b>Tabela I. 2.</b> Diversidade, dominância e equidade de espécies de Culicidae, capturados por armadilhas luminosa do tipo CDC, Shannon e EOAM na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, no período de junho de 2014 a junho de 2015.....	65
<b>Tabela I. 3.</b> Diversidade, dominância e equidade de espécies de Culicidae, em seis pontos de amostragem, capturas realizadas em 2014 e 2015 na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, Brasil. ....	66
<b>Tabela I. 4.</b> Valores do teste t-student a 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ) das comparações entre as diversidades de Shannon-Wiener, em 11 meses de amostragem na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, Brasil. ....	67
<b>Tabela I. 5.</b> Valores do teste t-student a 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ) das comparações entre as diversidades de Shannon-Wiener, em 11 meses de amostragem na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, Brasil. ....	72

## Capítulo II

<b>Tabela II. 1.</b> Mensurações de comprimento e largura dorsoventral de ovos de <i>Psorophora ferox</i> em comparação com as três diferentes populações (n = 10). .....	85
---	----

## Capítulo III

<b>Tabela III. 1</b> Dimensões dos ovos de espécimes de <i>Psorophora albipes</i> (n = 24). Medições em $\mu\text{m}$ . .....	94
---	----

## Capítulo V

<b>Tabela V. 1.</b> Dimensões dos ovos de espécimes de <i>Psorophora albipes</i> (n = 24). Medições em $\mu\text{m}$ . .....	119
--	-----

<b>Tabela V. 2.</b> Índice Dominância e índice padronizado de abundância de espécies (IPAE) para espécies .....	120
---	-----

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Tipologia de Florestas do Bioma Mata Atlântica (MMA, 2016).....	16
<b>Figura 2.</b> Visão geral da Reserva Biológica de Poço das Antas, município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro. Fonte: (ICMBIO 2007).....	27
<b>Figura 3.</b> Localização dos pontos de captura na Reserva Biológica de Poço das Antas. ....	30
<b>Figura 4.</b> Cobertura vegetal da Reserva Biológica de Poço das Antas. Fonte: Google earth. .	30
<b>Figura 5.</b> Ponto de captura REBIOPA-1 – Entrada da Reserva .....	31
<b>Figura 6.</b> Ponto de captura REBIOPA-2 – Bambual.....	31
<b>Figura 7.</b> Ponto de captura REBIOPA-3 – Porto da Piranha.....	32
<b>Figura 8.</b> Ponto de captura REBIOPA-4 – Estrada de Ferro .....	32
<b>Figura 9.</b> Ponto REBIOPA-5 – Acesso ao Projeto Mico-leão-dourado. ....	33
<b>Figura 10.</b> Ponto de captura REBIOPA-6 – Estrada do Aterro.....	33
<b>Figura 11.</b> A- Armadilha luminosa do tipo Shannon; B- armadilha luminosa do tipo CDC com gelo seco; Armadilha Humana Protegida com uso do capturador de Castro. ....	35
<b>Figura 12.</b> A- Identificação dos adultos de mosquitos ainda vivos com auxílio do microscópio óptico; B- Conservação dos adultos de Culicidae em nitrogênio líquido.....	35
<b>Figura 13.</b> A- Ovos de Aedini em papel filtro; B- Processamento de ovos na Capela de exaustão; C- Ovos montados em suportes metálicos recobertos com ouro; D-Microscópio eletrônico de varredura. ....	36
<b>Figura 14.</b> A- Extração do DNA; B-Reação de PCR com “primers”, para amplificação e purificação dos fragmentos; C- Corrida eletroforética. ....	37
<b>Figura 15.</b> A- Instalação de armadilhas de ovitrampa na copa da árvore; B- armadilhas de ovitrampa instalada na copa da árvore; C- Armadilhas de ovitrampa em diferentes Bambus; D- Armadilha de ovitrampa.....	38
<b>Figura 16.</b> A- Palhetas em câmara úmida; B-Contagem dos ovos com o auxílio do microscópio óptico; C- Palhetas em estufa com termoperíodo e fotoperíodo; D- Emersão das palhetas e triagem das larvas; E- Inspeção das gaiolas visando a separação das exúvias.....	39

<b>Figura 17.</b> A- Montagem das formas imaturas, genitálias e exúvias entre lamina e lamínula; B-Material utilizado para processamento de clarificação, desidratação e montagem de Culicidae.....	40
---	----

## Capítulo I

<b>Figura I. 1.</b> Local de estudo, Reserva Biológica Poços das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.....	61
---	----

<b>Figura I. 2.</b> Análise de cluster pelo método de Euclidiano completo, para a frequência absoluta das espécies Culicidae, em seis pontos de amostragem, capturas realizadas em 2014 na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.....	69
---	----

<b>Figura I. 3.</b> Análise de cluster pelo método de Euclidiano completo, para a frequência absoluta das espécies, Culicidae das espécies, em seis pontos de amostragem, capturas realizadas 2015 na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.....	70
--	----

<b>Figura I. 4.</b> Análise de cluster pelo método de Euclidiano completo, para a frequência absoluta das espécies, em 11 meses de amostragem na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.....	71
---	----

## Capítulo II

<b>Figura II. 1.</b> A- Vista ventral (superior), da extremidade anterior do ovo de <i>Psorophora ferox</i> ; B- Ornamentação típica do retículo coriônico exterior apresentando dois tipos de tubérculos; C- Aparato micropilar localizado na região anterior do ovo, formado por um colar com um frame bem evidenciado; D- Detalhe do disco micropilar e micrópila.....	86
---	----

## Capítulo III

<b>Figura III. 1.</b> Ovo de <i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> . A. vista ventral (superior); B. ornamentação típica do retículo coriônico externo mostrando dois tipos de tubérculos; C. região anterior do ovo que mostra o aparelho micropilar, formado por um disco micropilar com uma estrutura bem evidenciada; D. Região anterior do ovo, com micrópila. Mi- micropila; CMi- colar micropilar; DMi- disco micropilar.....	96
---	----

## Capítulo IV

**Figura IV. 1.** Alinhamento mostrando parcimônia de um fragmento de 658 pb do gene da Citocromo c oxidase subunidade I entre *Cx. (Mel.) pedroi* e *Cx. (Mel.) ribeirensis*. ..... 106

**Figura IV. 2.** Árvore filogenética COI (K2P). Somente valores de bootstrap superior a 50 são mostrados..... 107

## Capítulo V

**Figura V. 1.** Localização da área de estudo no estado do Rio de Janeiro, Brazil. PARNA-Itatiaia: Parque Nacional de Itatiaia; RBioPA: Reserva Biológica de Poço das Antas; RPPNBR: Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro..... 116

## LISTA DE ABREVIACOES

APO	Armadilha para ovos
BR	Rodovia Federal
°C	Grau Celsius
CDC	Centers on Diseases Control and Prevention
CNUC	Cadastro Nacional de Unidades de Conservação
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COI	Cytochrome C Oxidase I
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DIVES	Diversidade de Espécies
DNA (ADN)	Deoxyribonucleic acid (cido Desoxirribonucleico)
EH	Equidade de Hill
FAPERJ	Fundação de Amparo  Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GPS (SPG)	Global positioning system (Sistema de posição global)
IAE	ndice de abundância de espécies
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBM SPSS	Statistical Product and Service Solutions
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IDBF	Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal
INEA	Instituto Estadual do Meio Ambiente
IS	ndice de similaridade
IUCN (UICN)	International Union for Conservation of Nature (União Internacional para a Conservação da Natureza)
Km	Quilmetro
KOH	Hidróxido de potássio
M	Metro
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MEV	Microscopio Eletrônico de Varredura
MM	Milímetro
MMA	Ministério do Meio Ambiente
Mol	Molar
NCIBI	National Center for Integrative Biomedical Informatics
PAST	Paleontological statistics
PCR (RCP)	Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da polimerase)

PDTIS	Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
POM	Plano de Objetivos e Metas
REBIO	Reserva Biológica
REBIOPA	Reserva Biológica Poço das Antas
RNA (ARN)	Ribonucleic acid (ácido ribonucleico)
RPPN	Reserva Particular do Patrimônio Nacional
SEMA	Secretaria de Estado do Meio Ambiente
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SNUC	Sistema Nacional de Unidades de Conservação
UC	Unidade de conservação

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	1
Diversificação de Habitat de Culicidae.....	4
Unidades de conservação .....	7
Mata Atlântica.....	14
O uso de armadilhas (ovitrampas) como ferramenta para monitoramento de mosquitos .....	18
Breve histórico do estado da arte da microscopia eletrônica de varredura em estudos taxonômicos .....	19
Utilização de ferramentas da biologia molecular para diferenciação de espécies .....	22
JUSTIFICATIVA.....	23
OBJETIVO GERAL.....	25
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	25
MÉTODOS E PROCEDIMENTOS DA PESQUISA.....	26
Caracterização da área de estudo .....	26
Parecer ou protocolo de submissão do projeto ao comitê de ética em pesquisa .....	34
Instituições financiadoras e colaboradoras.....	34
Captura dos espécimes adultos .....	34
Microscopia Eletrônica de Varredura de ovos.....	36
Biologia Molecular.....	36
Armadilhas de oviposição .....	37
Montagem e identificação dos espécimes de Culicidae.....	39

Análise dos dados.....	41
REFERÊNCIAS .....	43

## CAPÍTULO I

DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO LOCAL DE CULICIDAE EM ÁREA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL .....	57
Resumo.....	57
Abstract .....	58
INTRODUÇÃO .....	59
MATERIAL E MÉTODOS .....	60
RESULTADOS.....	63
DISCUSSÃO .....	72
REFERÊNCIAS.....	76

## CAPÍTULO II

ANÁLISE COMPARATIVA DA ULTRAESTRUTURA DO OVO DE DIFERENTES POPULAÇÕES GEOGRÁFICAS DE <i>PSOROPHORA (JANTHINOSOMA) FEROX</i> (DIPTERA: CULICIDAE).....	80
Resumo.....	80
Abstract .....	81
INTRODUÇÃO .....	82
MATERIAL E MÉTODOS .....	83
RESULTADOS.....	84

DISCUSSÃO .....	87
REFERÊNCIAS.....	88

### **CAPÍTULO III**

ULTRAESTRUTURA E MORFOMETRIA DO OVO DE <i>PSOROPHORA ALBIPES</i> .....	90
Resumo.....	90
Abstract .....	91
INTRODUÇÃO .....	92
MATERIAL E MÉTODOS .....	93
RESULTADOS.....	95
DISCUSSÃO .....	97
REFERÊNCIAS.....	99

### **CAPÍTULO IV**

VARIAÇÃO NO DNA MITOCONDRIAL CITOCROMO C OXIDASE I IDENTIFICA COM SUCESSO <i>CULEX (MELANOCONION) PEDROI</i> (DIPTERA: CULICIDAE) E <i>CULEX (MELANOCONION) RIBEIRENSIS</i> (DIPTERA: CULICIDAE).....	102
Resumo.....	102
Abstract .....	103
INTRODUÇÃO .....	104
MATERIAL E MÉTODOS .....	105
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	106
REFERÊNCIAS.....	109

## CAPÍTULO V

DIVERSIDADE DE CULICIDAE DE HÁBITO ACRODENDRÓFILO, COM ÊNFASE EM <i>HAEMAGOGUS</i> (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES SILVESTRES DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA.....	113
Resumo.....	113
Abstrat.....	114
INTRODUÇÃO .....	115
MATERIAL E MÉTODOS .....	115
RESULTADOS.....	118
DISCUSSÃO .....	121
REFERÊNCIAS .....	123
CONCLUSÕES GERAIS .....	125
ANEXOS.....	127

## INTRODUÇÃO GERAL

Sob a perspectiva bioecológica de Culicidae, fatores como regime climático, temperatura, pressão, umidade, intensidade de luz e chuvas têm uma grande influência no tamanho e no comportamento da população desses insetos, ciclo de vida, relações de predatismo, características de dispersão de população e marcadores de resistência. As relações dos vetores com outros seres vivos com os quais convivem são fundamentais para executar uma análise qualificada das informações e para um acompanhamento contínuo dos indicadores selecionados (MOREIRA; MANSUR; FIGUEIRA-MANSUR, 2012). Nessa concepção, o estudo de insetos sob o escopo da bioecologia envolve a integração de várias áreas de pesquisa como bioquímica, fisiologia e comportamento dentro do contexto de ecologia e evolução (SLANSKY JR; RODRIGUEZ, 1987).

Na natureza nenhum ser, seja animal ou vegetal, vive isoladamente, todos mantêm relações, quer entre si, quer com o ambiente, que surge como componente crítico e possibilita a interação de alguns determinantes tais como vetores, hospedeiros e patógenos (REISEN, 2010).

Considerando as grandes alterações ambientais e os avanços nos conhecimentos relacionados à domiciliação, competência e capacidade vetorial dos culicídeos, simultâneo ao aumento da população humana, estudos relacionados a biodiversidade das comunidades de Culicidae em ambiente natural tornam-se necessários a fim de avaliar possíveis mudanças de comportamentos e adaptações no padrão de atividades exercidas por essas populações, até então consideradas como de hábito preferencialmente silvestre (VASCONCELOS et al., 2003)

Nesse sentido, a vigilância entomológica amplia seu leque de atividades, mais especificamente, estudos como origem e evolução, propriedades tais como nutrição, morfogênese, reprodução e patogenia corroboram para a descrição das características e comportamentos dos organismos individuais e dada espécie como um todo, bem como o entendimento sobre a reprodução dos seres vivos e as interações entre eles e o meio ambiente (FORATTINI, 2002).

Eventos históricos, que podem ser tanto de natureza temporal quanto espacial podem produzir mudança nas características da espécie no curso de sua vida uma vez que ambiente e particularidades desses culicídeos interagem. Como maior exemplo, o mosquito *Aedes aegypti* (Linaneus, 1762), que desenvolveu em sua trajetória evolutiva um comportamento

estritamente sinantrópico e antropofílico, o que lhe conferiu um papel epidemiológico na transmissão de doenças, destacando-se a dengue (NATAL, 2002). Segundo CHRISTOPHERS (1960), a partir da população silvestre, devido às pressões humanas decorrentes da destruição dos habitats naturais, uma variedade genética de *Ae. aegypti* teria sofrido um processo seletivo, adaptando-se às áreas alteradas, encontrando posteriormente ambiente adequado à sua sobrevivência nos aglomerados humanos.

Os culicídeos, mais comumente conhecidos pelo nome genérico de “mosquitos”, são insetos dípteros nematóceros pertencentes à família Culicidae. A forma adulta dos culicídeos são distinguíveis dos demais da ordem Diptera por apresentarem escamas nas veias alares, caráter que não se encontra nem nas famílias mais próximas, Chaoboridae e Dixidae (FORATTINI, 2002).

A família Culicidae atualmente está dividida em duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae. Ocorrem em todas as regiões do planeta constituindo grupo taxonômico de relevante biodiversidade com cerca de 3.490 espécies descritas distribuídas por aproximadamente 44 gêneros e 144 subgêneros (HARBACH, 2007) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Subfamílias, tribos, gêneros, subgêneros, número de espécies e distribuição de Culicidae.

Subfamília		Nº de	Nº de		
Tribo	Gênero	subgêneros	espécies	Distribuição	
<b>Anophelinae</b>	<i>Anopheles</i>	7	455	Cosmopolita	
	<i>Bironella</i>	3	8	Australásia	
	<i>Chagasia</i>	0	4	Neotropical	
<b>Culicinae</b>					
Aedeomyiini	<i>Aedeomyia</i>	2	6	Afrotropical, Australásia, Oriental, Neotropical	
Aedini	<i>Aedes</i>	23	363	Velho Mundo, Neártica	
	<i>Armigeres</i>	2	58	Australásia, Oriental	
	<i>Ayurakitia</i>	0	2	Oriental	
	<i>Borichinda</i>	0	1	Oriental	
		<i>Eretmapodites</i>	0	48	Afrotropical
		<i>Haemagogus</i>	2	28	Principalmente Neotropical
		<i>Heizmannia</i>	2	39	Oriental
		<i>Ochlerotatus</i>	22	550	Cosmopolitana
		<i>Opifex</i>	0	1	Nova Zelândia
		<i>Psorophora</i>	3	48	Novo Mundo
		<i>Udaya</i>	0	3	Oriental
		<i>Verrallina</i>	3	95	Principalmente Australásia, Oriental
		<i>Zeugomyia</i>	0	4	Oriental
	Culicini	<i>Culex</i>	23	763	Cosmopolitana
<i>Deinocerites</i>		0	18	Principalmente Neotropical	
<i>Galindomyia</i>		0	1	Neotropical	
	<i>Lutzia</i>	3	7	Afrotropical, Australásia, Oriental, Neotropical, Paleártico Oriental	
Culisetini	<i>Culiseta</i>	7	37	Velho Mundo, Neártica	
Ficalbiini	<i>Ficalbia</i>	0	8	Afrotropical, Oriental	
	<i>Mimomyia</i>	3	44	Afrotropical, Australásia, Oriental	
Hodgesiini	<i>Hodgesia</i>	0	11	Afrotropical, Australásia, Oriental	
Mansoniini	<i>Coquillettidia</i>	3	57	Velho Mundo, Neotropical	
	<i>Mansonia</i>	2	23	Velho Mundo, Neotropical	
Orthopodomyiini	<i>Orthopodomyia</i>	0	38	Afrotropical, Neártica, Neotropical, Oriental, Paleártico	
Sabethini	<i>Isostomyia</i>	0	4	Neotropical	
	<i>Johnbelkinia</i>	0	3	Neotropical	
	<i>Kimia</i>	0	5	Oriental	
	<i>Limatus</i>	0	8	Neotropical	
	<i>Malaya</i>	0	12	Afrotropical, Australásia, Oriental	
	<i>Maorigoeldia</i>	0	1	Nova Zelândia	
	<i>Onirion</i>	0	7	Neotropical	
	<i>Runchomyia</i>	2	7	Neotropical	
	<i>Sabethes</i>	5	38	Neotropical	
	<i>Shannoniana</i>	0	3	Neotropical	
	<i>Topomyia</i>	2	54	Principalmente Oriental	
	<i>Trichoprosopon</i>	0	13	Neotropical	
	<i>Tripteroides</i>	5	122	Principalmente Australásia, Oriental	
	<i>Wyeomyia</i>	15	140	Principalmente Neotropical	
Toxorhynchitini	<i>Toxorhynchites</i>	4	88	Afrotropical, Australásia, Neotropical, Paleártica Oriental, Oriental	
Uranotaeniini	<i>Uranotaenia</i>	2	265	Afrotropical, Australásia, Oriental, Neotropical	

No que se refere a artrópodes de importância epidemiológica, os culicídeos são os que mais tem atraído a atenção da saúde pública, devido seu envolvimento na transmissão de patógenos ao homem e aos animais domésticos. A grande maioria dos culicídeos são hematófagos, sendo esse hábito restrito às fêmeas, com exceção da tribo Toxorhynchitini que se alimentam de sucos vegetais. O repasto sanguíneo das fêmeas de Culicidae está relacionado primordialmente a maturação dos ovos. Dessa hematofagia decorre a importância médica e econômica desses insetos. Todavia, os adultos de ambos os sexos alimentam-se também de sucos e néctar de vegetais, já que o metabolismo energético da grande maioria depende da ingestão de carboidratos (FORATTINI, 2002; NAYAR; SAUERMAN, 1973).

São insetos cujo desenvolvimento pós embrionário se faz por holometabolia, assim sendo, passam pelas fases de ovo, quatro estágios larvais, pupa e adulto. Com exceção da última, que é terrestre, todas as demais fases se passam em ambiente aquático (FORATTINI, 2002).

Os ovos de uma maneira geral, apresentam contorno elíptico ou ovoide e dotados de estruturas destinadas a possibilitar ou facilitar a flutuação e adesão. São depositados isoladamente ou em conjuntos com os elementos aglutinados, o volume da postura é muito variado, oscilando de 50 a 500 ovos por fêmea. As formas larvais são eucéfalas, ápodas e com mobilidade ativa no meio aquático, apresentam cabeça dotada de antenas e partes bucais desenvolvidas, bem como tórax e abdômen distintos. As pupas são ortorrafas, classificadas como sendo adéctica e obtecta, possuem os segmentos abdominais móveis e apreciável mobilidade no meio aquático, sua morfologia corresponde a do adulto encapado que está nela contido. A forma adulta é nitidamente dividida em cabeça, tórax e abdome, essa fase é alada e reside na reprodução e dispersão (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

### **Diversificação de Habitat de Culicidae**

Diferenças entre os criadouros de diferentes espécies de Culicidae provavelmente se devem à seleção de seu local de oviposição pela fêmea (LAMBORN, 1922; SENIOR-WHITE, 1926) que é parte essencial no histórico de vida desses insetos. Essas espécies apresentam padrões diversos de utilização de recursos providos por múltiplos habitats, podem

desenvolver-se em água salgada, salobra ou doce. Há as que também se criam em outros líquidos orgânicos ou inorgânicos (FORATTINI, 2002).

Os locais de oviposição na natureza cobrem praticamente a gama de nichos aquáticos disponíveis, coleções águas formadas naturalmente no ambiente, incluindo vegetais e a ação dos animais silvestres e assim chamadas de criadouros naturais e também coleções aquáticas cuja presença é devida à ação do homem e dos animais domésticos a qual chamamos de criadouros artificiais (FORATTINI, 2002) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Classificação de criadouros de Culicidae.

<b>Criadouros</b>			
<b>Naturais</b>			
<b>No solo</b>		<b>Em recipientes</b>	
<b>Permanentes ou semipermanentes</b>	<b>Transitórios</b>	<b>Permanentes ou semipermanentes</b>	<b>Transitórios</b>
Lagoas, Pântanos, alagadiços, remansos	Enchentes, várzeas inundáveis, tocas de animais, buracos de caranguejos, etc.	Bambus, bromélias, etc	Cocos, conchas, folhas caídas etc.
<b>Artificiais</b>			
<b>No solo</b>		<b>Em recipientes</b>	
<b>Permanentes ou semipermanentes</b>	<b>Transitórios</b>	<b>Permanentes ou semipermanentes</b>	<b>Transitórios</b>
Represas, açudes, poços, piscinas etc.	Marcas de pneu, acúmulo de pedras, pegadas etc.	Tanques, caixa d'água, esgotos.	Latas, vidros, pneus, barris.

Intensivos trabalhos de campo revelaram que os culicídeos são bastante seletivos na escolha de locais para oviposição (MACAN, 1961). Evidentemente a predileção destes locais é elemento primordial na determinação da abundância e distribuição larval (HERMS; FREEBORN, 1920; KENNEDY, 1942; RUDOLFS; LACKEY, 1928; WALLIS, 1954) sendo útil para entender as variações observadas na intensidade da transmissão das moléstias e planejar estratégias de controle de vetores de forma mais eficiente.

Extremamente específico em seus requisitos de oviposição o gênero *Deinocerites* Theobald, 1901 ovipõe em tocas de caranguejo inundadas, são 18 espécies dentro do gênero e todas elas são especialistas nesse tipo de criadouro (HAEGER; PHINIZEE, 1959)

Os imaturos de *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827 e do subgênero *Ochlerotatus* Linch-Arribalzaga, 1894 de *Aedes* Lynch Arribalzaga, 1891 se desenvolvem em águas acumuladas em variados tipos de depressões do terreno que tem como característica precípua o fato de serem transitórios, como por exemplo poças, alagadiços e pântanos (ALMEIDA; DAVID E GORLA, 1995; SNOW; PICKARD; HAWKINS, 1960)

*Culex (Culex) nigripalpus* Theobald, 1901 é um mosquito eclético no que concerne à escolha de local para oviposição, podendo ser encontrado em quase qualquer habitat aquático de pântano salino e até em recipientes artificiais, como baldes, latas, pneus descartados e aquários para peixes. As jangadas de ovos desta espécie também foram encontradas em depressões causadas por rodas de automóveis e axilas das folhas de plantas (BENTLEY; DAY, 1989; FORATTINI, 2002).

Mosquitos dos gêneros *Wyeomyia* Theobald, 1901 e *Aedes* Meigen, 1818, usam locais específicos de oviposição, incluindo bromélias epífitas, e recipientes naturais ou artificiais (DOCILE et al., 2017; FRANK; CURTIS; EVANS, 1977; SILVA; ARAÚJO; FILHO, 2016).

O gênero *Haemagogus* Williston, 1896 é encontrado frequentemente colonizando bambus cortados, ocos de árvores e cascas de coco (MARCONDES; ALENCAR, 2010). Entre as espécies mais seletivas, *Sabethes (Sabethoides) chloropterus* (Humboldt, 1819), da tribo Sabethini, demonstra preferência em ovipor em ocos de árvore, com poucas exceções, espécies dessa tribo são restritas a oviposição e desenvolvimento no rico habitat aquático das fitotelmatas em geral (FORATTINI, 2002; GALINDO, 1957).

Como visto, os mosquitos podem ocupar grande variedade de habitats representados por coleções de água tanto no solo como em fitotelmatas. Das espécies que utilizam fitotelmatas, aquelas dos subgêneros *Phoniomyia* de *Wyeomyia* Theobald, 1903, *Microculex* de *Culex* Theobald, 1907 e *Kertezia* de *Anopheles* Theobald, 1905 são encontradas frequentemente em bromélias e internódios de bambus furados pela ação de animais (ALENCAR et al., 2015, 2016; FORATTINI, 1986; MARQUES et al., 2012).

Os mosquitos utilizam ainda diversos tipos de habitats larvais que são influenciados, diretamente, pela presença e composição das macrófitas aquáticas, é o caso de larvas e pupas de *Coquilletidia* Dyar, 1905 e *Mansonia* Blanchard, 1901, que fixam-se no parênquima

aerífero desses vegetais que se fazem presentes em habitats permanentes no solo, e assim, através do sifão respiratório retiram o ar acumulado nessas estruturas (FORATTINI, 1965).

Imaturos do subgênero *Nyssorrhynchus* de *Anopheles* Blanchard, 1902 são frequentes em coleções hídricas presentes no solo em ambientes rurais (FORATTINI et al., 1993a, 1993b).

Larvas dos subgêneros *Culex* Linnaeus, 1758 e *Melanoconion* de *Culex*. Theobald, 1903 se desenvolvem em habitats larvais no solo com alta concentração de matéria orgânica, natural ou induzida pelo homem (FORATTINI, 1965).

A preferência por um determinado tipo de criadouro para oviposição exibidas por muitas espécies de mosquitos em diferentes tipos de recipientes é o resultado de uma complexa interação entre fatores químicos e físicos, da qual dependerá a sobrevivência dos estágios larvais dos culicídeos (CLEMENTS, 1963; BARKER-HUDSON; JONES; KAY, 1988; BENTLEY; DAY, 1989).

É esperado que espécies oportunistas e capazes de expelir seus ovos na maioria dos habitats aquáticos tenham uma vantagem distinta em relação às espécies que dependem de habitats especializados ou raros. De fato, as espécies distribuídas em locais de oviposição especializados tendem a ser restritas a esses mesmos locais (BENTLEY; DAY, 1989).

Diversas pesquisas de campo fornecem evidências sobre a discriminação do local de postura de ovos realizada pelos mosquitos e é bem provável que a restrição de uma determinada espécie de larva a um determinado tipo de criadouro seja em grande parte resultado da oviposição seletiva por parte da fêmea adulta de Culicidae (FOCKS; MCLAUGHLIN; SMITH, 1988; METZ, 1918; SENIOR-WHITE, 1926, 1928).

### **Unidades de conservação**

A ideia de espaços naturais institucionalmente protegidos, teve início em 1872 nos Estados Unidos com a criação do Yellowstone National Park. Ainda que iniciativas semelhantes já tinham se dado em outros lugares do mundo, como, por exemplo, as reservas de caça da realeza europeia, foi, entretanto, da evolução do conceito de Parque Nacional na forma instituída em Yellowstone, que surgiram os sistemas de unidades de conservação reproduzidos mundialmente (RUNTE, 2010).

As unidades de conservação têm protegido o patrimônio ambiental brasileiro desde a década de 30, com a aprovação do código Florestal em 1934 e logo após a criação do Parque Nacional do Itatiaia no ano de 1937, primeira UC do país, seguida pelo Parque Nacional do Iguaçu e Parque Estadual Serra dos Órgãos, ambos criados em 1939. Essa rede de áreas naturais eram legalmente protegidas e administrados pelo Serviço Florestal do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1934; ICMBIO, 2007).

Em 1967 foi criado o Instituto Brasileiro do Desenvolvimento Florestal – IBDF (Decreto-Lei nº 289, de 1967), que passou a ser responsável pela administração das unidades já criadas, incluindo-se às suas atribuições a de criar novos parques nacionais, reservas biológicas, florestas nacionais e os parques de caça. (BRASIL, 1967a).

Surge então, no ano de 1974 a primeira Reserva Biológica do Brasil – Poço das Antas –, prevista desde a promulgação do Novo Código Florestal (Lei nº 4.771, de 15 de setembro de 1965) e ratificada pela Lei de Proteção à Fauna (Lei nº 5.197, de 03 de janeiro de 1967), essa categoria de manejo destina-se à preservação total do meio ambiente, ressalvadas as atividades científicas devidamente autorizadas pelo órgão competente. Trata-se de uma categoria de manejo então inovadora, voltada unicamente à conservação da biota, pesquisa e à educação ambiental, excluída a visitação para lazer (BRASIL, 1965, 1967b)

Com a instituição da Secretaria Especial de Meio Ambiente – SEMA, do Ministério do Interior, uma nova categoria de manejo de uso restritivo veio somar-se às outras: as estações ecológicas (Lei nº 6.902, de 27 de abril de 1981), logo após, no ano de 1987 a Resolução nº 10 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) criou procedimentos para a compensação ambiental por danos aos recursos ambientais causados por empreendimentos de médio e grande porte, que foram efetivamente homologados pela Resolução CONAMA 02/96 (BRASIL, 1981; CONAMA, 1987, 1996).

Finalmente, com o advento da lei nº 9.985 de 18 de julho de 2000, que regulamentou o Sistema Nacional de Unidades de conservação (SNUC), criou-se uma estratégia extremamente eficaz para a manutenção dos recursos naturais em longo prazo, já que possuem objetivos específicos que se diferenciam quanto à forma de proteção e usos permitidos: aquelas que precisam de maiores cuidados, pela sua fragilidade e particularidades, e aquelas que podem ser utilizadas de forma sustentável e conservadas ao mesmo tempo, possibilitando que as Unidades de Conservação, além de conservar os ecossistemas e a

biodiversidade, gerem renda, emprego, desenvolvimento e propiciem uma efetiva melhora na qualidade de vida das populações locais e do Brasil como um todo (BRASIL, 2000).

Sendo a proteção do meio ambiente uma competência que concorre a todas as esferas do Poder Público, à iniciativa privada e toda sociedade civil, a criação, implantação e gestão de unidades de conservação (UC) é composto por 12 categorias (Tabelas 3 e 4).

**Tabela 3.** Descrição das Unidades de Conservação de Proteção Integral por categoria e origem.

<b>Grupo</b>	<b>Categoria SNUC</b>	<b>Origem</b>	<b>Descrição</b>
<b>Proteção integral</b>	Estação Ecológica	SEMA (1981)	De posse e domínio público, servem à preservação da natureza e à realização de pesquisas científicas. A visitação pública é proibida, exceto com objetivo educacional. Pesquisas científicas dependem de autorização prévia do órgão responsável.
	Reserva Biológica	Lei de Proteção à Fauna (1967)	Visam a preservação integral da biota e demais atributos naturais existentes em seus limites, sem interferência humana direta ou modificações ambientais, excetuando-se as medidas de recuperação de seus ecossistemas alterados e as ações de manejo necessárias para recuperar e preservar o equilíbrio natural, a diversidade biológica e os processos ecológicos.
	Parque Nacional	Código Florestal de 1934	Tem como objetivo básico a preservação de ecossistemas naturais de grande relevância ecológica e beleza cênica, possibilitando a realização de pesquisas científicas e o desenvolvimento de atividades de educação e interpretação ambiental, de recreação em contato com a natureza e de turismo ecológico.
	Monumento Natural	SNUC (2000)	Objetivam a preservação de sítios naturais raros, singulares ou de grande beleza cênica.
	Refúgio de vida Silvestre	SNUC (2000)	Sua finalidade é a proteção de ambientes naturais que asseguram condições para a existência ou reprodução de espécies ou comunidades da flora local e da fauna residente ou migratória.

**Tabela 4.** Descrição das Unidades de Conservação de Uso Sustentável por categoria e origem.

<b>Grupo</b>	<b>Categoria SNUC</b>	<b>Origem</b>	<b>Descrição</b>
<b>Uso sustentável</b>	Área de Relevante Interesse Ecológico	SEMA (1984)	Geralmente de pequena extensão, são áreas com pouca ou nenhuma ocupação humana, exibindo características naturais extraordinárias ou que abrigam exemplares raros da biota regional, tendo como objetivo manter os ecossistemas naturais de importância regional ou local e regular o uso admissível dessas áreas, de modo a compatibilizá-lo com os objetivos de conservação da natureza.
	Reserva Particular do Patrimônio Natural	MMA (1996)	De posse privada, gravada com perpetuidade, objetivando conservar a diversidade biológica.
	Área de Proteção Ambiental	SEMA (1981)	São áreas geralmente extensas, com um certo grau de ocupação humana, dotadas de atributos abióticos, bióticos, estéticos ou culturais especialmente importantes para a qualidade de vida e o bem-estar das populações humanas, e tem como objetivos básicos proteger a diversidade biológica, disciplinar o processo de ocupação e assegurar a sustentabilidade do uso dos recursos naturais.
	Floresta Nacional	Código Florestal de 1934	É uma área com cobertura florestal de espécies predominantemente nativas e tem como objetivo básico o uso múltiplo sustentável dos recursos florestais e a pesquisa científica, com ênfase em métodos para exploração sustentável de florestas nativas.
	Reserva de desenvolvimento Sustentável	SNUC (2000)	São áreas naturais que abrigam populações tradicionais, cuja existência baseia-se em sistemas sustentáveis de exploração dos recursos naturais, desenvolvidos ao longo de gerações, adaptados às condições ecológicas locais, que desempenham um papel fundamental na proteção da natureza e na manutenção da diversidade biológica.
	Reserva de Fauna	Lei de Proteção à Fauna (1967) - sob o nome de Parques de Caça	É uma área natural com populações animais de espécies nativas, terrestres ou aquáticas, residentes ou migratórias, adequadas para estudos técnico-científicos sobre o manejo econômico sustentável de recursos faunísticos.
	Reserva Extrativista	SNUC (2000)	Utilizadas por populações locais, cuja subsistência baseia-se no extrativismo e, complementarmente, na agricultura de subsistência e na criação de animais de pequeno porte, áreas dessa categoria tem como objetivos básicos proteger os meios de vida e a cultura dessas populações, e assegurar o uso sustentável dos recursos naturais da unidade.

A área abrangida por UC tem aumentado, especialmente nos últimos anos, resultando em 1.585.778 de km<sup>2</sup> destinados para a conservação da biodiversidade, preservação de paisagens naturais com notável beleza cênica, uso sustentável dos recursos naturais e valorização da diversidade cultural brasileira. Toda essa área está protegida por um total de 961 unidades federais, 864 estaduais e 246 municipais dados consolidados até 18 de junho de 2017 (MMA, 2017).

**Tabela 5.** Unidades de Conservação nas esferas Federal, Estadual e Municipal (CNUC/MMA 2017).

Tipo /Categoria	Esfera						TOTAL	
	Federal		Estadual		Municipal			
<b>Proteção Integral</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>
Estação Ecológica	32	74.731	61	47.596	3	10	96	122.336
Monumento Natural	3	443	29	906	12	133	44	1.481
Parque Nacional / Estadual / Municipal	72	267.208	205	94.182	122	404	399	361.795
Refúgio de Vida Silvestre	8	2.692	38	1.796	3	66	49	4.554
Reserva Biológica	31	42.628	23	13.447	8	51	62	56.126
<b>Total Proteção Integral</b>	<b>146</b>	<b>387.702</b>	<b>356</b>	<b>157.927</b>	<b>148</b>	<b>664</b>	<b>650</b>	<b>546.292</b>
<b>Uso Sustentável</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>	<b>Nº</b>	<b>Área (Km²)</b>
Floresta Nacional / Estadual / Municipal	67	170.778	39	135.856	0	0	106	306.634
Reserva Extrativista	62	124.724	28	19.867	0	0	90	144.591
Reserva de Desenvolvimento Sustentável	2	1.026	30	110.950	5	171	37	112.147
Reserva de Fauna	0	0	0	0	0	0	0	0
Área de Proteção Ambiental	34	106.503	188	336.940	83	26.064	305	469.506
Área de Relevante Interesse Ecológico	16	431	25	451	9	138	50	1.020
RPPN	634	4.831	198	757	1	0	833	5.588
<b>Total Uso Sustentável</b>	<b>815</b>	<b>408.293</b>	<b>508</b>	<b>604.821</b>	<b>98</b>	<b>26.373</b>	<b>1.421</b>	<b>1.039.486</b>
<b>Total Geral</b>	<b>961</b>	<b>795.995</b>	<b>864</b>	<b>762.748</b>	<b>246</b>	<b>27.037</b>	<b>2.071</b>	<b>1.585.778</b>
Considerando Sobreposição Mapeada	<b>961</b>	<b>785.958</b>	<b>864</b>	<b>756.418</b>	<b>246</b>	<b>27.004</b>	<b>2.071</b>	<b>1.547.792</b>

As UCs das esferas estadual e municipal são administradas por meio dos Sistemas Estaduais e Municipais de Unidades de Conservação, na esfera Federal são administradas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO, 2007).

O Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade é uma autarquia em regime especial. Criado dia 28 de agosto de 2007, pela Lei 11.516, o ICMBio é vinculado ao Ministério do Meio Ambiente e integra o Sistema Nacional do Meio Ambiente (Sisnama) e é responsável por propor, implantar, gerir, proteger, fiscalizar e monitorar as unidades de conservação federais, além de fomentar e executar programas de pesquisa, proteção, preservação e conservação da biodiversidade e exercer o poder de polícia ambiental para a proteção da biodiversidade em todo o Brasil. O ICMBIO gere Unidades de Conservação que estão espalhadas em todos os biomas brasileiros e abrange todas as categorias (BRASIL, 2007).

Segundo (ARRUDA; SÁ, 2003) o patrimônio ambiental brasileiro é altamente expressivo em todo hemisfério terrestre, um tesouro natural expresso pela extensão continental, diversidade e endemismo das espécies biológicas e patrimônio genético e ainda uma variedade ecossistêmica dos biomas.

O Brasil considerado um país megadiverso, abriga sete biomas, onde são encontrados grande variedade de espécies da fauna e da flora, são cerca de 56 mil espécies de plantas superiores; 3150 peixes continentais e 1358 peixes marinhos; 973 espécies de anfíbios; 1982 espécies de aves; 734 espécies de mamíferos, mais de 120 mil espécies de invertebrados e ainda abriga a maior rede hidrográfica do planeta (ICMBIO, 2007).

A heterogeneidade da flora vem diminuindo muito nos biomas brasileiros, levando ao desaparecimento espécies regionais que sequer foram catalogadas, com isso se torna cada vez mais necessário dispor de estudos e pesquisas sobre riquezas do bioma onde se vive, sobre o endemismo e diversidade das espécies biológicas ali presentes, e no sentido de conservar a biodiversidade em seu ambiente natural e assim manter populações viáveis ao longo do tempo o governo tem criado e mantido essas unidades de conservação nos vários biomas e ecossistemas brasileiros (ARRUDA; SÁ, 2003).

## **Mata Atlântica**

Segundo PRADO (2012), os primeiros europeus que chegaram a costa brasileira se depararam com uma magnífica floresta de vegetação exuberante, repleta de plantas e animais desconhecidos e exóticos. Esta floresta, que mais tarde seria conhecida como Mata Atlântica, fascinou os visitantes com sua imponência e riqueza biológica. O naturalista Charles Darwin também se maravilhou com a beleza do bioma, é o que mostra os registros em seu diário “Bahia ou São Salvador, Brasil, 29 de fevereiro - Nunca tinha sentido tão grande encantamento” (DARWIN, 1860).

BUENO (1998) relata que ao passo que naturalistas eram atraídos pela beleza da floresta, Portugal visava a exploração com fins lucrativos, arrendando terras para mercantes de poderes aquisitivos altos, os quais faziam expedições em busca de especiarias e principalmente do pau brasil (*Caesalpina echinata* Lamarck, 1785).

O pau-brasil também garantiu o pagamento de empréstimos que nação brasileira fez aos bancos ingleses após sua independência. A exploração predatória da árvore cessou no final do século XIX quando foi descoberto um corante artificial tornando assim a extração da mesma economicamente inexecuível (BUENO, 2002). Entretanto, a devastação prosseguiu, a exuberante floresta foi concedendo espaço para o plantio da cana de açúcar (*Saccharum* Lineu, 1953) que tornou-se a principal fonte de renda da colônia, a qual estava sendo habitada de forma progressiva, em seguida foi implantada a pecuária expandindo-se como atividade econômica. Cronologicamente segue a degradação da Mata Atlântica através da mineração, instalações de arraiais e vilas, seguindo-se pelo cultivo de café (*coffea arabica* Lineu), ciclo econômico que gerou um crescimento populacional ainda maior, possibilitou a construção de ferrovias, contribuindo assim para o aumento do desmatamento no século XIX (TONHASCA, 2005).

Após todo esse assédio à Mata Atlântica, atualmente dados da FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA (1980) indicam que restam menos de 8,5% da floresta original, a qual cobria proximamente 12% do território brasileiro.

Cerca de metade da população brasileira vive em áreas originalmente cobertas pela Mata Atlântica, portanto a pressão populacional nas suas áreas remanescentes é enorme. Para que a floresta e as suas espécies sobrevivam, é preciso que a sua importância seja plenamente reconhecida pelos brasileiros, principalmente por aqueles que vivem nas suas proximidades (TONHASCA, 2005).

O bioma Mata Atlântica em sua complexidade é constituído por formações florestas e ecossistemas associados inseridos no domínio Mata Atlântica, com as respectivas delimitações estabelecidas pelo Mapa de Vegetação do IBGE, 2012: Floresta Ombrófila Densa; Floresta Ombrófila Mista, também denominada de Mata de Araucárias; Floresta Ombrófila Aberta; Floresta Estacional Semidecidual; Floresta Estacional Decidual; campos de altitude; áreas das formações pioneiras, conhecidas como manguezais, restingas, campos salinos e áreas aluviais; refúgios vegetacionais; áreas de tensão ecológica; brejos interioranos e encraves florestais, representados por disjunções de Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Estacional Decidual; áreas de estepe, savana e savana-estépica; e vegetação nativa das ilhas costeiras e oceânicas (Figura 1).

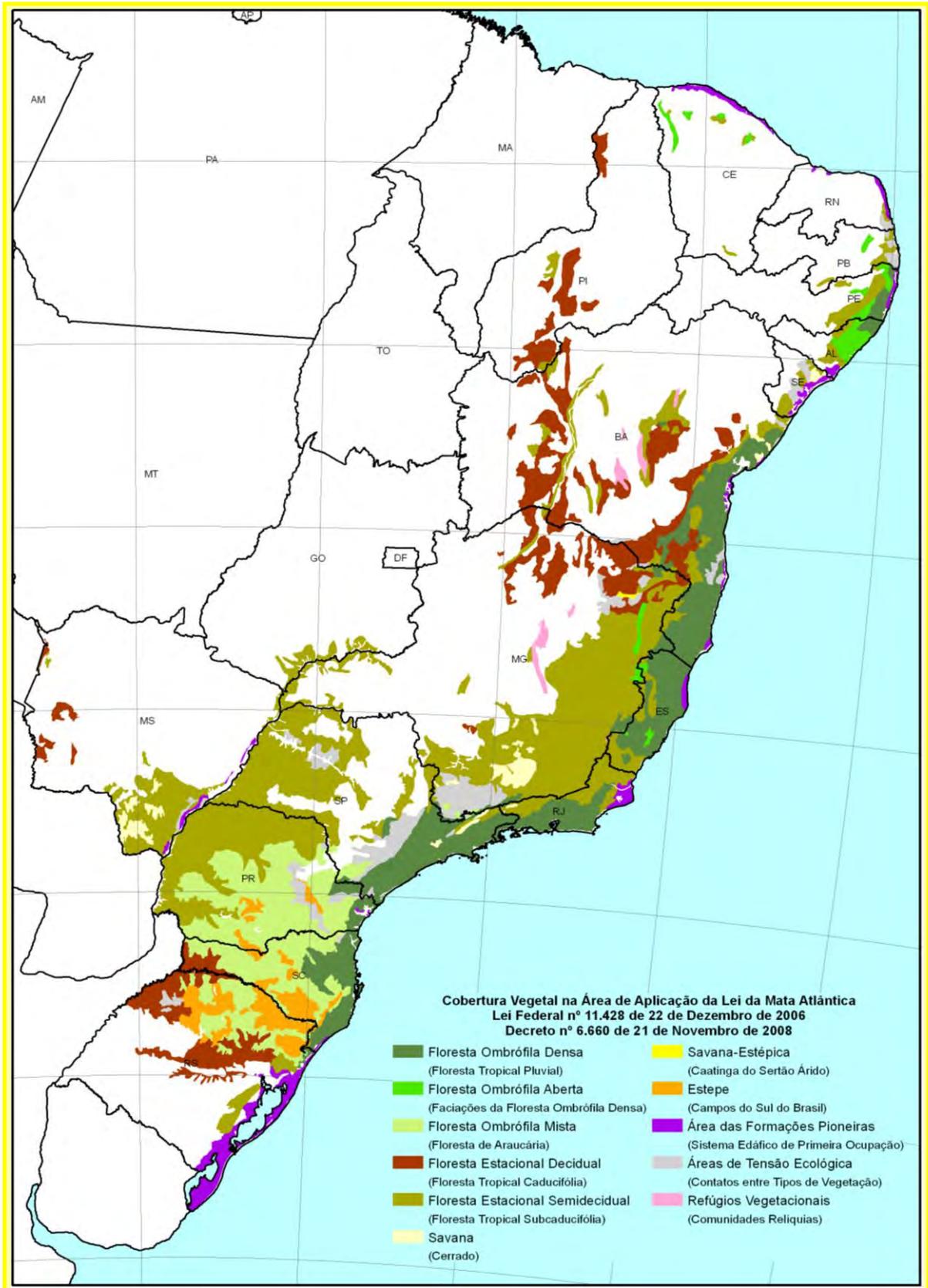


Figura 1. Tipologia de Florestas do Bioma Mata Atlântica (MMA, 2016).

Apesar de seu território ter sido em boa parte destruído, a Mata Atlântica apresenta grande biodiversidade, sendo assim uma das florestas tropicais mais importantes do mundo com destaque na importância que apresenta para os milhões de brasileiros que vivem em seu domínio, onde 70% do PIB brasileiro gerados são devidos a importantíssimos serviços ambientais prestados por esse bioma (MMA, 2017).

Segunda maior floresta em extensão no Brasil, a Mata Atlântica tem sua área abrangendo a costa nordeste, sudeste e sul do Brasil e, além disso, uma parte do Paraguai e da Argentina (COSTA, 1997). Dentre os estados brasileiros a Mata Atlântica está presente em dezessete unidades federativas (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia Alagoas, Sergipe, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará e Piauí (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 1980).

Seu clima predominante é o tropical úmido, no entanto, existem outros microclimas ao longo da floresta que geram sombra e umidade, ocorre grandes quantidades de chuvas que são regulares e bem distribuídas (GENTRY, 1991). No bioma ocorre sete das nove maiores bacias hidrográficas brasileiras, rios e lagos abrigam ricos ecossistemas aquáticos. Sua vegetação é composta pela presença de diversos estratos arbóreos, ocasionando a baixa luminosidade no interior da mata. Árvores de médio e grande porte abrigam diversos tipos de plantas epífitas destacando-se as *Bromeliaceae* Juss. (1789). A fauna é rica, com presença de diversas espécies de mamíferos, anfíbios, aves, insetos, peixes e répteis, sendo várias delas endêmicas, já o solo é pobre, porém tem a fertilidade garantida pela existência da serapilheira (TONHASCA, 2005).

Considerada um dos cinco mais importantes “HotsSpots” de biodiversidade no mundo, a Mata Atlântica ainda sofre intensa pressão populacional nas suas áreas remanescentes. Grande parte da população que vive em áreas originalmente cobertas pela Mata Atlântica ou em suas proximidades não reconhece a importância da preservação desse conjunto de ecossistemas (TONHASCA, 2005), o que se torna um desafio das autoridades públicas, onde se faz necessário que por meio de educação ambiental a população seja sensibilizada a identificar a Mata Atlântica como patrimônio cultural, biológico, estético e singularmente econômico.

## **O uso de armadilhas (ovitrampas) como ferramenta para monitoramento de mosquitos**

Os culicídeos, além da mudança de hábitos por parte dos adultos, podem apresentar a sobrevivência e o desenvolvimento das larvas em criadouros artificiais, indicando que tais mosquitos são portadores de uma adaptação genética. A utilização de recipientes artificiais, como criadouros, em área antropogênica, evidencia plasticidade genética que os direcionam evolutivamente no sentido da domiciliação (LOPES, 1997).

Segundo MARTINS; BARBEITOS (2000), muitas adaptações fisiológicas, morfológicas e comportamentais de insetos estão condicionadas a detecção de sinais resultantes de variações ambientais. Essas alterações podem ser de uma ou mais variáveis, bióticas ou abióticas, que informam ao inseto, ou à sua prole, a transição para nova situação ambiental, na qual as probabilidades de sobrevivência e reprodução são efetivamente avaliadas, podendo manifestar-se em uma escala global ou local (por exemplo, diminuição de um determinado recurso).

A utilização de criadouros artificiais por algumas espécies de mosquitos parece indicar mudança de hábito ou mero oportunismo. O encontro de larvas em criadouros artificiais evidencia a capacidade da espécie em colonizar ambientes antropogênicos (SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE, 2011).

FAY; ALIASON (1966) idealizaram a armadilha de oviposição, conhecida como ovitrampa. Esta se constitui de um recipiente preto, usualmente de plástico, com boca larga, uma palheta de eucatex contendo um lado áspero, colocada verticalmente no seu interior. Este recipiente é parcialmente preenchido com água. A armadilha de Ovitrampa tem sido utilizada como ferramenta para a detecção precoce de novas infestações e na vigilância de populações vetoriais em área com baixa densidade (GOMES, 1998).

Os ovos de mosquitos são frequentemente encontrados na água de criadouros ou na parede dos recipientes que servem como tais. As armadilhas artificiais conhecidas como ovitrampas são preparadas de modo a reproduzir as condições naturais dos criadouros no ambiente silvestre. Posteriormente a instalação destas em pontos estratégicos, segue-se a metodologia preconizada por LOZOVEI (2001), na qual as armadilhas são recolhidas semanalmente ou a cada dia para verificação. Segundo FORATTINI (2002) o termo mais usado é a designação inglesa de ovitraps mas também são conhecidas como armadilha para ovos (APO).

SANTOS NETO; MARQUES (1996), relatam que os diversos tipos de ovitrampas devem ser compatíveis às diferentes exigências biológicas e ecológicas das diversas espécies de mosquitos. Considerando que as espécies de mosquitos utilizam uma variedade de locais de postura, os métodos recomendados para coleta de ovos praticamente correspondem, em número, ao dos diversos grupos de culicídeos.

A utilização de armadilhas para oviposição das fêmeas de mosquitos vetores tem sido utilizada como ferramenta valiosa nos estudos taxonômicos direcionados à vigilância epidemiológica em regiões de ocorrência das arboviroses, pela praticidade e viabilidade de aplicação por longos períodos. FORATTINI (2002) relata que os caracteres morfológicos de ovos são ainda pouco ou incompletamente conhecidos, o que tem servido de estímulo na comunidade científica à descoberta e descrição de ovos de culicídeos em todo o mundo nos últimos anos (ALENCAR et al., 2003; LINLEY, 1989a, 1989b, 1989c; MATSUO & KUNOU, 1972; MELLO et al., 2014).

### **Breve histórico do estado da arte da microscopia eletrônica de varredura em estudos taxonômicos**

A principal função de qualquer microscópio é tornar visível ao olho humano detalhes impossíveis de visualizar a olho nu, e o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) tem a capacidade de produzir imagens com uma aparência tridimensional característica, pois o que é visualizado no monitor do aparelho é a transcodificação da energia emitida pelos elétrons, possibilitando a investigação da estrutura superficial de uma dada amostra com magnitude de até 300.000 vezes em alta resolução (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

KNOLL (1935) conceituou o MEV após conseguir a focalização do feixe eletrônico sobre a superfície de uma amostra e a gravação da corrente emitida em função da posição, mais adiante ZWORYKIN; HILLER; SNYDER (1942) descreveram que a emissão de elétrons secundários poderia ser responsável pelo contraste topográfico da imagem gerada e em 1965 o MEV (Cambridge instrumentos científicos – modelo Stereoscan) surgiu comercialmente e desde então muitos avanços foram obtidos tornando-o uma das mais versáteis ferramentas disponíveis para a observação e análise das características microestruturais de materiais sólidos (NAGATANI et al., 1987).

O desenvolvimento do MEV paralelo ao desenvolvimento de computadores, softwares e imagens digitais simplificou de forma satisfatória a análise e publicação de resultados de diversas pesquisas, a riqueza de detalhes topográficos superficiais evidenciados pelo MEV torna possível, por exemplo, que taxonomistas identifiquem espécies e que encontrem importantes dados para a classificação (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007; GRIMSTONE, 1980).

A MEV garante que informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida sejam fornecidos de forma rápida e eficaz, portanto, sua utilização é comum em biologia, odontologia, farmácia, engenharia, química, metalúrgica, física, medicina e geologia (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

Pesquisas de superfícies de diversas estruturas de plantas por microscopia eletrônica de varredura são descritas em BATISTA et al., 2017; MOAWED; IBRAHIM, 2016; SOUZA et al., 2011 e confirmam que estudos anatômicos são suficientes para reconhecer a composição de uma paleoflora assim como análises estomáticas também podem ser realizadas para distinguir diferentes grupos de plantas.

A palinologia também é auxiliada pelo MEV, quando grãos de pólen apresentam morfologia polínica semelhante, sendo apenas diferenciados em MEV (FERREIRA; ABSY; GONCALVES-ESTEVEVES, 2012; TAKAHASHI, 1997)

Além disso, a microscopia eletrônica pode ser utilizada para estudo de vertebrados fósseis, que apresentem alguma preservação de tecido mole, KELLNER; SCHWANKE; CAMPOS (1999) fez uso da técnica na descoberta de vasos sanguíneos e fibras musculares preservados em um fóssil de dinossauro, a espécie *Santanaraptor placidus* Kellner, 1999 encontrada no interior do Ceará, na bacia do Araripe.

GARCIA; ODEBRECHT (2009) elaboraram uma chave dicotômica e uma tabela comparativa com as dimensões e características diagnósticas para a identificação de dezessete espécies de *Thalassiosira* Cleve (1873) onde a utilização da técnica MEV foi utilizada.

A empregabilidade da MEV permitiu que fosse identificado, a partir da microestrutura da casca, o primeiro ovo fossilizado de um pássaro que viveu no Brasil durante a era Mesozoica (MARSOLA et al., 2014). A técnica também foi indispensável no estudo morfológico e histológico dos ovos de espécies do gênero *Triatoma* Laporte, 1832 onde os autores descrevem variações encontradas em seis espécies ainda não estudadas neste estágio de desenvolvimento (OBARA et al., 2007).

Quanto o uso da MEV em espécies de Culicidae, tem sido muito utilizada na fase de ovo devido sua morfologia ser reconhecida como capaz de fornecer detalhes nos caracteres importantes para a identificação de material de criadouros, compreensão da biologia e sistemática do grupo.

GOELDI (1905) em sua obra intitulada Mosquitos do Pará cita o aspecto granuloso dos ovos de Culicidae observados por microscopia de luz, algumas décadas depois MATSUO & KUNOU (1972) realizam o primeiro estudo utilizando a técnica de MEV em ovos de mosquitos evidenciando a presença de estruturas denominadas tubérculos.

Imagens em microscopia eletrônica de varredura do exocório de ovos tem demonstrado ser um excelente parâmetro para comparação entre espécies. A ornamentação do exocório revela significativas diferenças, principalmente no que diz respeito à presença de tubérculos nas células coriônicas, permitindo, assim a distinção entre as espécies de Culicidae (ALENCAR et al., 2003, 2005; MELLO et al., 2014; SANTOS-MALLET et al., 2009, 2010).

O estudo de ovos de *Oc. scapularis* (Rondani, 1848) (= *Ae. scapularis*) de Córdoba (Argentina) e de Santa Catarina não indicou diferenças morfológicas (SANTOS-MALLET et al., 2009).

LINLEY; CHADEE, (1990) observaram diferenças entre ovos de *Ps. (Janthinosoma) ferox* (Humboldt, 1819) da Flórida (EUA) e de Trinidad, possivelmente indicando variações intraespecíficas ou mesmo interespecíficas. O estudo de material das mesmas espécies de diferentes procedências, no Brasil e em países próximos, pode indicar diferenças.

Um sumário realizado por REINERT (2010) revela que apenas 17,9% das espécies de Culicidae tiveram seus ovos ilustrados ou descritos, em sua maioria por microscopia de luz (REINERT, 2010; REINERT; HARBACH; SALLUM, 2005).

Como mencionado, diversos trabalhos têm sido desenvolvidos com a aplicação do MEV, tornando possível a observação do comportamento do mundo microscópico e sua correlação com os acontecimentos nas dimensões sensíveis às percepções humanas. Essa ferramenta abriu a possibilidade de realização de estudos morfológicos detalhados com objetivo de contribuir na identificação de representantes das espécies de Culicidae pertencentes a diferentes complexos (FORATTINI, 2002).

## **Utilização de ferramentas da biologia molecular para diferenciação de espécies**

As interações entre espécies e ambiente têm sido analisadas por meio de observações de campo e manipulações experimentais. Esses direcionamentos fornecem dados fenotípicos, que podem ser alicerçados em um ou mais aspectos da morfologia, fisiologia ou comportamento das espécies. Entretanto, a empregabilidade de dados fenotípicos para induzir variação genética de populações é bastante questionável. Embora algumas características fenotípicas estejam sob estrito controle genético, fatores ambientais podem influenciar a relação entre o genótipo (exemplo conjunto de genes) e o fenótipo de um indivíduo (BUENO-SILVA, 2012).

Alterações morfológicas nem sempre são identificadas como decorrência do processo de especiação (QUEIROZ, 2007). Para auxiliar na separação de espécies crípticas e estudar o relacionamento entre elas tem-se utilizado, além da morfologia clássica, microscopia eletrônica de varredura e morfometria, ferramentas bioquímicas e de biologia molecular. Com essas técnicas tem-se conseguido não só a diferenciação de espécies, como também estudar a variabilidade genética intraespecífica e inferir na filogenia (FORATTINI, 1996). Os estudos morfológicos de espécies semelhantes poderiam ser grandemente adiantados se fossem realizados de forma integrativa em conjunto com estudos baseados na utilização da combinação de características de todos os estágios de desenvolvimento (REINERT; HARBACH; KITCHING, 2008). Assim sendo, metodologias alternativas a taxonomia tradicional são utilizadas, destacando-se estudos moleculares.

A sistemática molecular é o produto contemporâneo de duas grandes áreas da biologia: a sistemática e a genética molecular. Informações de base genética dos organismos, sejam provenientes de DNA ou RNA, podem ser úteis para a correta identificação e descrição da biota e na geração de conhecimento dos padrões naturais (como a correta distribuição geográfica de uma espécie e a variabilidade genética de suas populações) que, por sua vez, servirão de base para o entendimento de processos evolutivos (como a formação de barreiras de isolamento reprodutivo, eventos de especiação ou ainda resistência vetorial aos inseticidas). Existe ainda a possibilidade de utilizar toda a informação contida no genoma para inferir a história evolutiva do ser vivo (obtendo-se muito mais caracteres do que os utilizados na morfologia) e de identificar as relações de parentesco em qualquer nível taxonômico (MONTEIRO; PAVAN; MONTEIRO, 2014).

O uso da homologia DNA-DNA associada a uma variedade de características ecológicas e fenotípicas na classificação de microrganismos foi denominada de taxonomia polifásica por COLWELL (1970) que propôs a integração da informação do nível molecular ao ecológico para obtenção de identificações e classificações mais precisas e confiáveis. Em princípio, toda informação genotípica, fenotípica e filogenética pode ser incorporada na taxonomia polifásica, mas a hibridização de DNA-DNA tem papel pivotal no delineamento de espécies.

A sistemática de vários insetos, mesmo com a disponibilidade de recursos adicionais à biologia, à morfologia bem como a biologia molecular, segundo ZAVORTKINK (1994) não tem merecido a devida atenção, e a preocupação com a tríade impacto-competição-internacionalidade, contribuiu muito para desestimular pesquisas em sistemática (FORATTINI, 1996).

Segundo YANG; ROTHMAN (2004) apesar dos avanços tecnológicos, os métodos de amplificação da molécula de DNA apresentam limitações que incluem resultados falso-positivos, decorrentes de contaminação com DNA, e resultados falso-negativos relacionados com a presença de inibidores da PCR.

O estudo molecular das populações tropicais, as quais compõem a família Culicidae é de suma importância, pois ainda não se tem o conhecimento suficiente sobre a variabilidade morfológica e genética de várias espécies. Uma correta identificação das espécies constitui a base fundamental para construir conhecimentos em ecologia e outras áreas da biologia. As falhas na diferenciação e identificação de espécies podem levar a difundir e amplificar erros conceituais e metodológicos em outras áreas que podem ter implicações não só no nosso conhecimento sobre a natureza, mas na estrutura e no funcionamento do ecossistema, nas decisões de manejo e de programa de saúde humana (BORTOLUS, 2008).

## **JUSTIFICATIVA**

As florestas tropicais contêm a maior parte da diversidade, ao mesmo tempo em que contêm os maiores hiatos no conhecimento da sua fauna. O Brasil, com uma mega biodiversidade, enfrentando uma alarmante destruição de habitats, com espécies sendo

extintas antes que possam ser descobertas ou descritas pela ciência, tem uma necessidade urgente de ampliação dos inventários faunísticos, incluindo levantamentos da entomofauna.

Os animais e os vegetais podem se tornar importantes aliados do homem e da natureza como indicadores ambientais, podendo advertir várias alterações ocorridas no ambiente, mostrando quando ele está contaminado ou sendo destruído, pela presença de produtos tóxicos no solo, na água ou no ar. Os indicadores biológicos são muito úteis devido à sua especificidade a certos tipos de impacto, já que inúmeras espécies são comprovadamente sensíveis a um tipo de poluente, mas tolerantes a outros.

Deste modo quando se propõe estudos prolongados sobre a ecologia da entomofauna, é muito importante ter-se em mente que o habitat a ser estudado não sofrerá alterações, para que os resultados estejam muito próximos do ambiente natural, sem que os efeitos da ação antrópica os modifiquem. Por outro lado, o conhecimento da dinâmica das populações só poderá ser alcançado se a sistemática e ecologia do grupo forem estudadas integralmente.

O estudo pleiteado permitiu identificar possíveis alterações ambientais impostas pelo homem que poderão ou não facilitar a ocorrência de epidemias em ecossistemas silvestres, utilizando para tal desiderato, a fauna de Culicidae como bioindicadores ambientais e destacando as espécies de importância médico-veterinária, teve como objetivo avaliar espécies de culicídeos que respondem às mudanças ambientais e adaptam-se ou, por outro lado, desaparecem frente às diferentes condições, podendo tais espécies tornarem-se indicadoras da ecologia de sistemas naturais. As informações obtidas no presente estudo estão apresentadas na forma de cinco artigos sobre bioecologia das espécies de mosquitos coletadas na Reserva Biológica de Poço das Antas que está situada no município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro. A diversidade e distribuição local de mosquitos é abordada no primeiro artigo “Diversidade e distribuição local de Culicidae em área de preservação ambiental do Estado do Rio de Janeiro, Brasil”, apresenta informações sobre diversidade e a influência dos fatores climáticos sobre a distribuição das espécies de mosquitos, os índices de diversidade demonstraram que as armadilhas luminosas de CDC apresentaram maior diversidade, riqueza e equidade. A abundância dos culicídeos correlacionou-se positivamente com a temperatura. Considerando fortemente a diversidade de espécies de mosquitos na Reserva Biológica de Poço das Antas e o seu papel potencial para transmissão de patógenos, combinado com um fluxo intermitente de visitantes na área de estudo, reforça os que a

atividade de vigilância entomológica deve ser contínua na região estudada. O segundo artigo “Análise comparativa da ultraestrutura do ovo de diferentes populações geográficas de *Ps. ferox* (Diptera: Culicidae)” apresenta resultados comparativos de ovos de diferentes populações *Ps. ferox* utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura como ferramenta, nesse artigo foram visualizadas diferenças morfológicas, nos exocórios de diferentes espécies destes culicídeos. O terceiro artigo “Ultraestrutura e morfometria do ovo de *Ps. albipes* (Theobald) 1907 (Diptera: Culicidae)”, foi descrito com o uso da microscopia eletrônica de varredura e complementado pela análise morfométrica das principais estruturas observadas. Assim, as chaves para identificação de ovos de mosquitos poderão ser elaboradas correlacionando a estrutura fina com consistentes diferenças discerníveis sob o microscópio estereoscópico. O quarto artigo “Variação no DNA Mitocondrial Citocromo C Oxidase I identifica (COI) com sucesso *Cx. (Mel.) pedroi* Sirivanakarn and Belkin 1980 (Diptera: Culicidae) e *Cx. (Mel.) ribeirensis* Forattini e Sallum 1985 (Diptera: Culicidae)” teve como objetivo avaliar a identidade taxonômica desses táxons através do DNA barcoding. Baseados nos resultados concluímos que o DNA Mitocondrial Citocromo C Oxidase I é uma ferramenta útil para a identificação de *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis*. O estudo da biodiversidade de culicídeos vetores do vírus da febre amarela silvestre resultou no quinto artigo “Diversidade de Culicidae de hábito acrodendrófilo, com ênfase em *Haemagogus* (Diptera: Culicidae) vetores silvestres do vírus da febre amarela”.

## **OBJETIVO GERAL**

Estudar a diversidade, ecologia, morfologia e a identidade dos culicídeos em áreas do domínio de Mata Atlântica da Reserva Biológica de Poços das Antas, Estado do Rio de Janeiro.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Realizar o levantamento faunístico das espécies de mosquitos na área da Reserva Biológica de Poço das Antas, visando analisar a distribuição espacial e temporal das espécies,

relacionando cada ocorrência com as variáveis climáticas locais: temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica;

2. Caracterizar a fauna de culicídeos da Reserva Biológica de Poço das Antas, quanto à riqueza, diversidade, dominância e equidade das espécies;

3. Estudar e descrever os ovos dos Culicidae através da técnica de microscopia eletrônica de varredura e realizar análise morfométrica das principais estruturas;

4. Avaliar a identidade taxonômica de *Cx. ribeirensis* e *Cx. pedroi*, através do DNA barcoding;

5. Avaliar diversidade de Culicidae de hábito acrodendrófilo, com ênfase em *Haemagogus* vetores silvestres do vírus da febre amarela, através do uso de armadilhas de ovitrampas.

## **MÉTODOS E PROCEDIMENTOS DA PESQUISA**

### **Caracterização da área de estudo**

As coletas foram realizadas na Reserva Biológica Poço das Antas, que está localizada no limite sudeste do Município de Silva Jardim, entre os paralelos 22°30' e 22°33' de latitude sul e os meridianos 42°15' e 42°19' de longitude oeste, entre rios São João, Aldeia Velha e a rodovia BR-101. Totalmente contida no Município de Silva Jardim, na região de baixada litorânea, na Microrregião da Bacia do São João do estado do Rio de Janeiro, a aproximadamente 120 Km da capital, faz fronteira com os Municípios de Casimiro de Abreu, a nordeste, e de Araruama, ao sul. Há, ainda, um pequeno trecho de limite, a leste, com o Município de Cabo Frio (Figura 2).

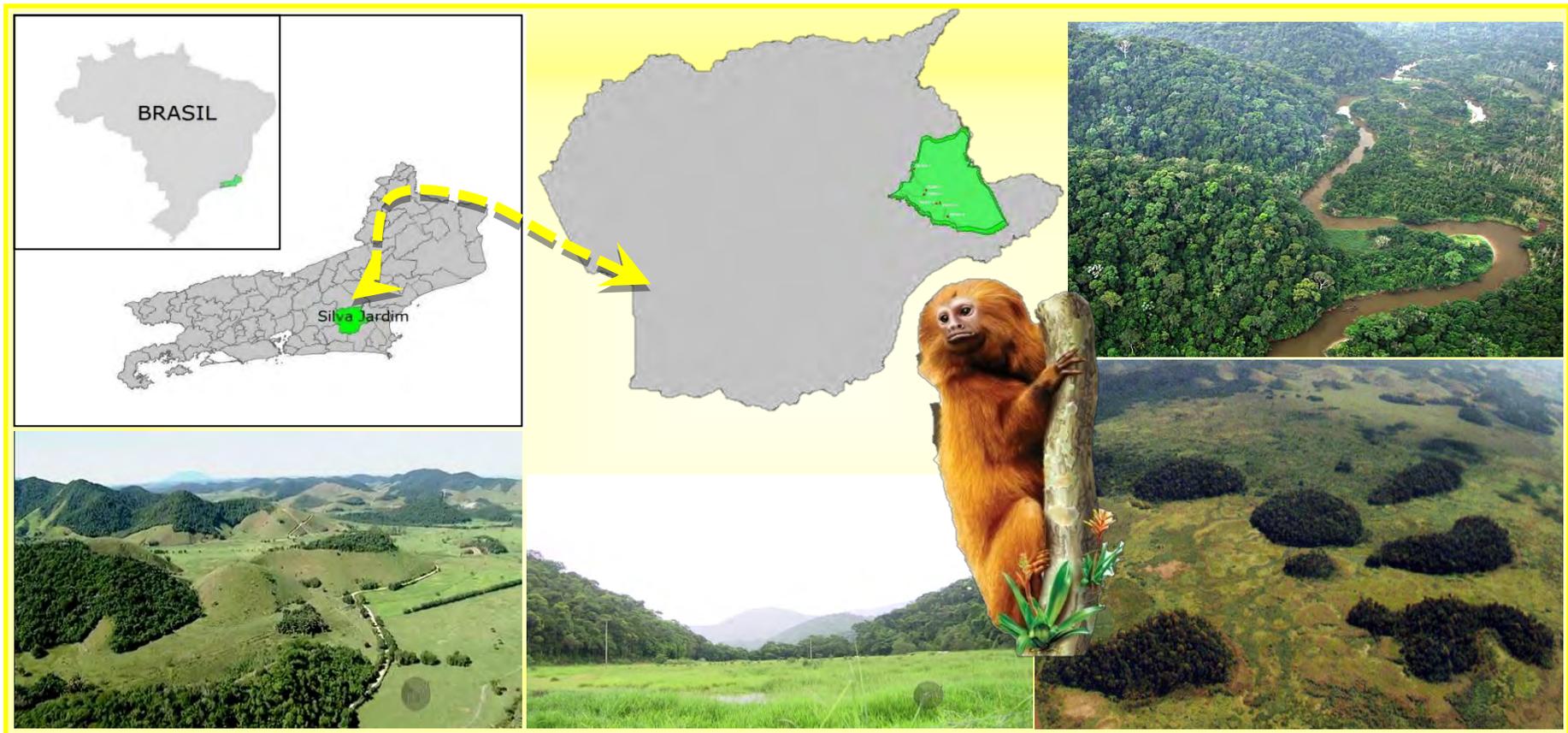


Figura 2. Visão geral da Reserva Biológica de Poço das Antas, município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro. Fonte: (ICMBIO 2007).

A Reserva de Poço das Antas foi a primeira Reserva Biológica de proteção integral criada no país, sua história teve início no ano de 1967 quando houve uma grande preocupação com a sobrevivência do mico-leão-dourado - *Leontopithecus rosalia* (C. Linnaeus, 1766) que estava desaparecendo juntamente a mata de baixada, aquela mais próxima à região litorânea antes da cadeia serrana. Neste período, foram realizados voos de helicópteros na região do Vale do Rio São João com intuito de buscar uma área que pudesse resguardar o ecossistema de mata atlântica costeira, proteger a fauna nativa e preservar espécies ameaçadas de extinção (IBDF/FBCN, 1981).

Em 1970, em meio ao plano de valorização do Vale do São João e a preocupação com a destruição das últimas florestas situadas nas partes planas da região, em consequência das obras de saneamento, regularização e irrigação do Vale do São João e a construção da Rodovia BR 101, fatores que trariam grande risco de extinção do mico-leão-dourado, foi realizado no ano seguinte, um inventário para avaliar quais propriedades particulares estariam inseridas na área que seria destinada para reserva biológica. Somente três anos depois, no ano de 1974 após pressão da opinião pública internacional e com o apoio de entidades conservacionistas, o governo brasileiro assinou o decreto de criação da Reserva Biológica de Poço das Antas com mais de 5 mil hectares de área de Mata Atlântica protegida no estado do Rio de Janeiro (BRASIL, 1975).

O nome Poço das Antas tem origem em uma das três propriedades que constituiu a área da reserva, a Fazenda Poço d'anta, localizada à margem do Rio São João, nesta fazenda havia uma estação ferroviária e uma pequena comunidade que levavam o mesmo nome, o qual está relacionado à ocorrência de antas - *Tapirus Brisson*, 1762 na região, o maior mamífero terrestre das Américas já foi extinto localmente há muito tempo. A anta, que deu nome a uma das propriedades originárias da reserva, está extinta na região (IBDF/FBCN, 1981; ICMBIO, 2007).

A unidade de conservação protege um dos únicos remanescentes de Mata Atlântica de baixada e se destaca pela significativa atividade de pesquisa, populações de animais que estavam em vias de desaparecer na natureza conseguiram se recuperar na área, a preguiça-de-coleira - *Bradypus torquatus* Desmarest, 1816, a onça jaguatirica - *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758), o macaco bugio - *Alouatta* Lacépède, 1799 e o mico-leão que é encontrado somente no estado do Rio de Janeiro e em mais nenhum lugar do mundo são alguns dos animais com risco de extinção que vivem na reserva biológica, são mais de 365 espécies de plantas sendo que destas,

12 estão na lista de espécies ameaçadas da IUCN, 275 espécies de aves, sendo que 18 também estão ameaçadas por serem endêmicas como o mico leão. Outra espécie que só vive na vegetação pantanosa de baixada litorânea encontrada no estado do Rio de Janeiro é a borboleta da praia *Parides ascanius* (Cramer, 1775) que se destaca como o primeiro inseto brasileiro a aparecer na lista de insetos ameaçados de extinção (ICMBIO, 2007).

Na área o relevo é plano, coexistindo com elevações, morros e colinas, cuja altitude varia de algumas dezenas de metros até o ponto culminante de 205 metros. Sua vegetação predominante é a Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas, com duas diferenciações: floresta alagada e não alagada. (SAPORTA; YOUNG, 2009).

O clima da região é quente e úmido com estação chuvosa no verão, sem inverno pronunciado e as temperaturas médias anuais são elevadas durante quase todo o ano. A média das temperaturas máximas é de 30°C - 32°C e as mínimas não ultrapassam os 18°C. A precipitação média anual é de 1.000 mm e está concentrada nos meses de outubro a abril, sendo julho e agosto os meses menos chuvosos (IBDF/FBCN, 1981).

As capturas foram realizadas em seis pontos de amostragem, visando estabelecer a influência exercida pela cobertura vegetal com diferentes estágios de preservação e variações entre diferentes biótopos (Tabela 6, Figuras 3 e 4).

**Tabela 6.** Pontos de capturas georeferenciados na Reserva Biológica de Poço das Antas.

Pontos de coleta	Sul	Oeste
REBIO-1	S22°31.999'	W042°18.422'
REBIO-2	S22°33.173'	W042°17.831'
REBIO-3	S22°33.415'	W042°17.926'
REBIO-4	S22°33.922'	W042°17.312'
REBIO-5	S22°33.870'	W042°17.128'
REBIO-6	S22°34.633'	W042°16.733'

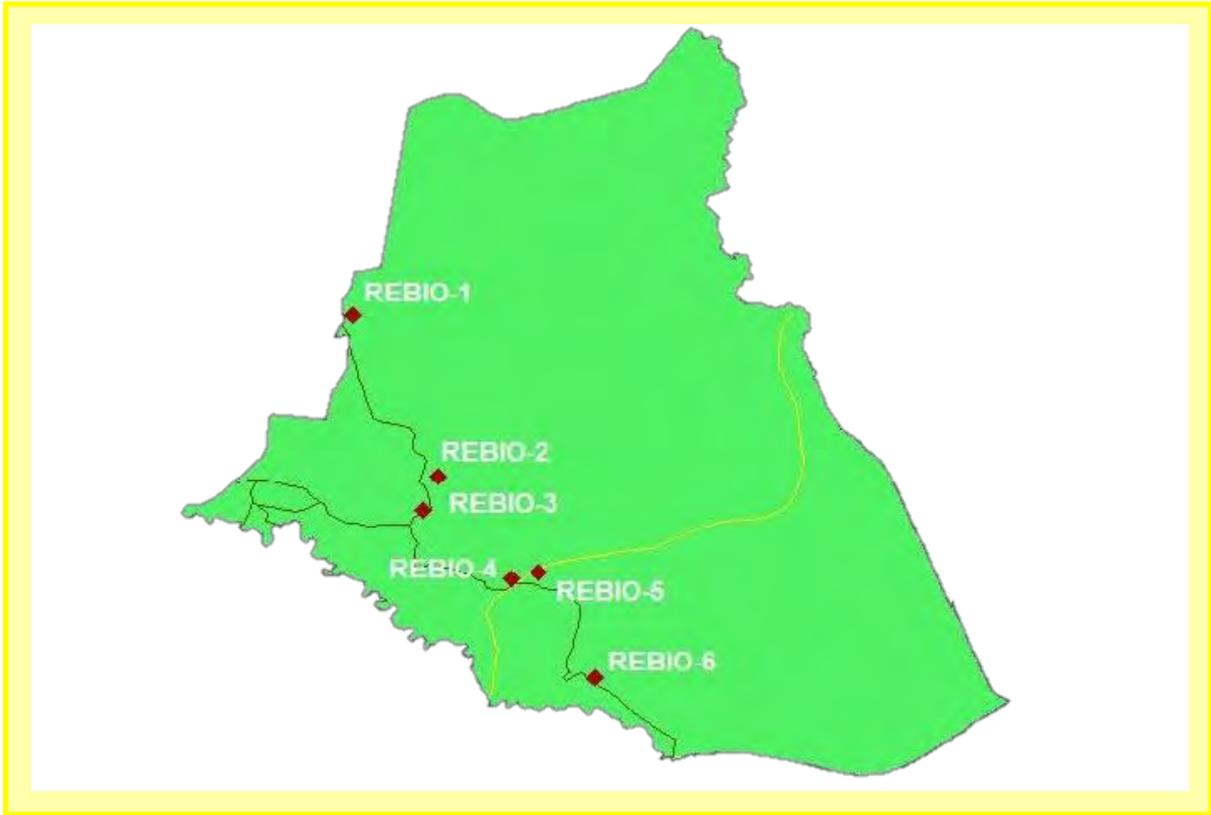


Figura 3. Localização dos pontos de captura na Reserva Biológica de Poço das Antas.



Figura 4. Cobertura vegetal da Reserva Biológica de Poço das Antas. Fonte: Google earth.

O ponto 1 - (REBIOPA-1) está localizado a cerca de 900 metros da entrada da Reserva Biológica, possui cobertura vegetal ricamente composta por plantas típicas da região (Figura 5).



**Figura 5.** Ponto de captura REBIOPA-1 – Entrada da Reserva

O ponto 2 (REBIOPA-2) contém vegetação de médio porte, com predomínio da monocultura de bambu (Figura 6).



**Figura 6.** Ponto de captura REBIOPA-2 – Bambual.

O ponto 3 (REBIOPA-3) é dominado por mata ciliar localizada às margens do córrego que frequentemente é sujeito a alagamento durante o período das chuvas (Figura 7).



**Figura 7.** Ponto de captura REBIOPA-3 – Porto da Piranha

O ponto 4 (REBIOPA-4) apresenta mata com vegetação em estágio avançado de regeneração, em trecho no qual operou uma ferrovia que atravessa trechos da reserva (Figura 8).



**Figura 8.** Ponto de captura REBIOPA-4 – Estrada de Ferro

O ponto 5 (REBIOPA-5) possui vegetação secundária de Mata Atlântica, com recomposição florística semelhante à mata original (Figura 9).



**Figura 9.** Ponto REBIOPA-5 – Acesso ao Projeto Mico-leão-dourado.

O ponto 6 (REBIOPA-6) apresenta área inundável com porções de vegetação de porte arbóreo (Mata-Alagados), herbáceo e aquático (Brejo) (Figura 10).



**Figura 10.** Ponto de captura REBIOPA-6 – Estrada do Aterro.

As coordenadas geográficas dos pontos de amostragem foram obtidas utilizando um Garmin GPSmap 60CS GPS e os mapas foram confeccionados em Arcview 10® e editado em Adobe Photoshop CS5® e CorelDraw X5®.

### **Parecer ou protocolo de submissão do projeto ao comitê de ética em pesquisa**

O projeto na área da Reserva Biológica de Poço das Antas teve autorização de coleta, captura e transporte de material zoológico (Nº 44333-1) com data da emissão em 05/06/2014, Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO. Todos os membros da equipe de coleta estavam devidamente vacinados contra o vírus da febre amarela e com conhecimento dos possíveis riscos da área estudada.

### **Instituições financiadoras e colaboradoras**

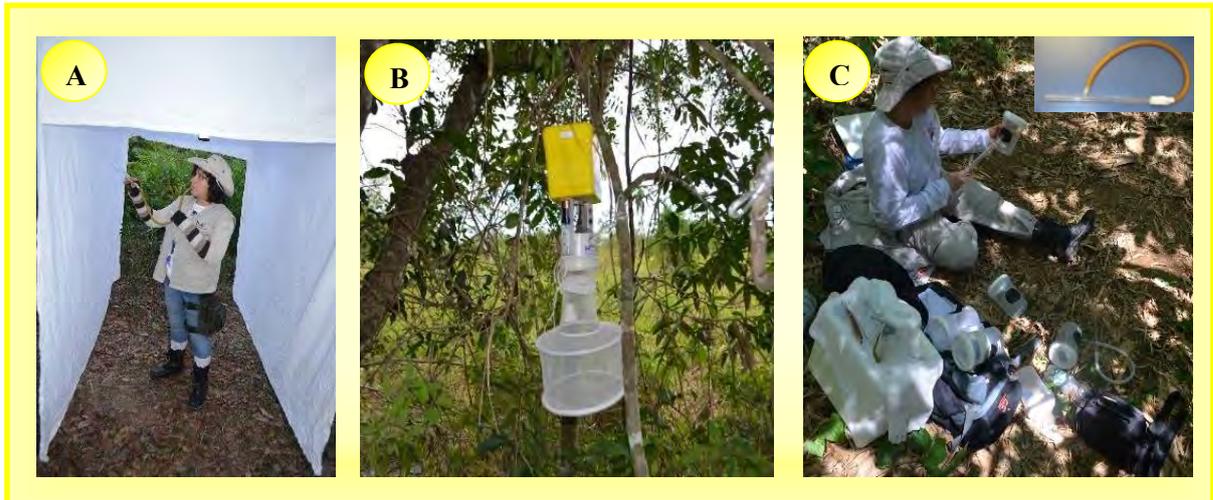
O presente estudo teve apoio de dois projetos contemplados nos editais Jovem Cientista/FAPERJ e BIOTA/FAPERJ, submetidos por Jeronimo Augusto Fonseca Alencar e aprovados em 09/2015, 12/2014 respectivamente e pelo Plano de Objetivos e Metas (POM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

### **Captura dos espécimes adultos**

Metodologia detalhada para realização dos objetivos específicos: 1, 2, 3 e 4

A metodologia utilizada seguiu as orientações contidas na portaria 45/2007 e nota técnica 12/2007 da secretaria de vigilância de saúde do ministério da saúde.

Realizamos a captura dos adultos Culicidae durante três dias de amostragem consecutivos a cada mês, de junho de 2014 a junho de 2015, utilizando dois tipos de armadilhas luminosas (CDCs automáticas e Shannon) durante o período noturno, CDCs automáticas com CO<sub>2</sub><sup>®</sup> e espécimes ocasionalmente atraídos pelos membros da equipe (EOAM) com o uso do capturador de castro durante o período diurno (Fig. 11).



**Figura 11.** A- Armadilha luminosa do tipo Shannon; B- armadilha luminosa do tipo CDC com GELO SECO; Armadilha Humana Protegida com uso do capturador de Castro.

A duração da coleta com o uso de CDCs automáticas foi de 24 horas, nos 6 pontos amostrais em dois dias consecutivos, o período de utilização da Shannon foi das 18:00hs às 21:00hs nos pontos 3 em um dia e no ponto 6 no outro dia e a armadilha humana protegida teve duração de 1 dia, no período de 8:00hs as 21:00hs em todos os pontos amostrais.

Repetimos o mesmo método de captura e temporalidade para todos os pontos aqui descritos. As informações climáticas pluviosidade, umidade relativa do ar e de temperatura foram obtidos no Instituto Estadual do Ambiente - INEA, estação de Juturnaíba. Parte dos exemplares capturados foram sacrificados em recipientes mortíferos contendo clorofórmio, outros em gaiolas de transporte identificados ainda vivos no mesmo dia e criopreservados em nitrogênio líquido para posterior análises moleculares (Fig. 12).



**Figura 12.** A- Identificação dos adultos de mosquitos ainda vivos com auxílio do microscópio óptico; B- Conservação dos adultos de Culicidae em nitrogênio líquido.

## Microscopia Eletrônica de Varredura de ovos

Metodologia detalhada para realização do objetivo específico: 3

Os ovos foram fixados em glutaraldeído 2,5% e pós-fixado em tetróxido de ósmio 1%, ambos em tampão cacodilato de sódio 0.1M, pH 7,2. Após a lavagem no mesmo tampão os ovos foram desidratados em série crescentes de etanol e submetidos ao método de secagem pelo ponto crítico utilizando CO<sub>2</sub> superseco em aparelho Balzers. A seguir foram montados em suportes metálicos recobertos com ouro, observados e fotografados no microscópio eletrônico de varredura (Jeol 5310®) com ampliações de 200 a 5000 vezes (Fig. 13).



**Figura 13.** A- Ovos de Aedini em papel filtro; B- Processamento de ovos na Capela de exaustão; C- Ovos montados em suportes metálicos recobertos com ouro; D-Microscópio eletrônico de varredura.

## Biologia Molecular

Metodologia detalhada para realização do objetivo específico: 4

As extrações de DNA genômico foram realizadas com kit de ADN MiniPrep™. A Reação em Cadeia Polimerase (PCR) foi de acordo com FOLMER et al., 1994 e PINTO et al., 2015. Os fragmentos amplificados foram purificados utilizando Agencourt AMPure PE (Beckman Coulter Life Sciences), o sequenciamento foi realizado na plataforma da Fundação

Oswaldo Cruz pelo Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde (PDTIS / FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil. Para construção da árvore filogenética, consideramos as sequências do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e BOLD Requisitos (<http://www.boldsystems.org/>) (Figura 14).



**Figura 14.** A- Extração do DNA; B-Reação de PCR com “primers”, para amplificação e purificação dos fragmentos; C- Corrida eletroforética.

### **Armadilhas de oviposição**

Metodologia detalhada para realização do objetivo específico: 5

As armadilhas de oviposição são bem econômicas e sensíveis para detectar a presença de mosquitos. Realizamos o monitoramento através da utilização de armadilhas do tipo ovitrampa que foram instaladas aleatoriamente nos pontos 1 e 2 no solo e em alturas de até 2m. As palhetas foram substituídas quinzenalmente durante os meses de dezembro 2014 a abril de 2015, identificados de acordo com o ponto e acondicionados em uma câmara úmida para transporte ao laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz (Figura 15).



**Figura 15.** A- Instalação de armadilhas de ovitrampa na copa da árvore; B- armadilhas de ovitrampa instalada na copa da árvore; C- Armadilhas de ovitrampa em diferentes Bambus; D- Armadilha de ovitrampa.

As palhetas positivas foram separadas no laboratório, submetidas à contagem dos ovos e imersas em bandejas brancas contendo água desclorada. Em seguida, colocamos as bandejas por três dias em estufa com termoperíodo e fotoperíodo reguladas à temperatura de  $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de 75 a 90% e fotoperíodo de 14 horas. Após esse período as palhetas eram acondicionadas em bandejas secas por um período de aproximadamente 3-4 dias, fora da estufa para que fossem imersas novamente visando o término de desenvolvimento embrionário dos ovos que não haviam eclodido. As larvas encontradas a cada imersão das palhetas foram transferidas para copos de plásticos em gaiolas entomológicas e monitoradas diariamente, sendo adicionada mistura triturada de ração de peixes Alcon Basic®, como fonte de alimento para esses imaturos (Figura 16).



**Figura 16.** A- Palhetas em câmara úmida; B-Contagem dos ovos com o auxílio do microscópio óptico; C- Palhetas em estufa com termoperíodo e fotoperíodo; D- Emersão das palhetas e triagem das larvas; E- Inspeção das gaiolas visando a separação das exúvias.

### **Montagem e identificação dos espécimes de Culicidae**

Todos os espécimes de Culicidae em sua forma adulta provenientes das armadilhas de Shannon, CDCs automáticas luminosas, CDCs automáticas com CO<sub>2</sub>, armadilhas de oviposição e também aqueles espécimes ocasionalmente atraídos pelos membros da equipe foram sacrificados com uma solução de éter etílico ou clorofórmio, em seguida acondicionados em tubos cônicos fabricados em polipropileno, contendo no fundo uma camada de naftalina (visando a proteção contra bioteriores), uma camada de algodão e uma membrana circular de papel filtro qualitativo (visando proteção contra a quebra de estruturas dos espécimes). No momento de sua identificação esses espécimes foram montados em alfinetes entomológicos com o auxílio de alicate furador, pinça, triângulos de papel e esmalte incolor e posteriormente etiquetados com os dados da coleta.

Alguns espécimes adultos foram identificados através das terminálias (= genitálias) dos machos, que foram clarificadas – Solução KOH; Desidratadas – Álcool 70% a álcool absoluto; solubilizadas de sujeiras– Celosove; e montadas em bálsamo do Canadá, entre

lâmina e lamínula e secas na estufa, o mesmo processamento foi realizado em formas larvais e exúvias larvais e pupais (Figura 17).



**Figura 17.** A- Montagem das formas imaturas, genitálias e exúvias entre lamina e lamínula; B- Material utilizado para processamento de clarificação, desidratação e montagem de Culicidae.

A identificação das espécies foi realizada a partir da observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereomicroscópio e consulta às descrições/diagnoses respectivas das spp, utilizando chaves dicotômicas elaboradas por CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994; FARAN & LINTHICUM, 1981; FORATTINI, 2002; e JOHN LANE, 1953.

Para as espécies da tribo Aedini seguiram-se as recomendações do EDITORIAL DO JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY (Editorial, 2005), que sugerem que *Ochlerotatus* Lynch Arribalzaga, 1891 seja tratado como subgênero dentro do gênero *Aedes*, em contraposição ao trabalho de (REINERT, 2000) que elevou *Ochlerotatus* à categoria de gênero. Foram utilizadas duas letras para abreviar o nome dos gêneros e três para os subgêneros, conforme proposto por REINERT (2001).

REINERT (1975) preconiza a utilização de abreviações genéricas e subgenéricas curtas e padronizadas, a fim de facilitar o reconhecimento de cada táxon e reduzir o espaço impresso em tabelas, listas, descrições, etiquetas de identificação, estudos computacionais,

entre outras vantagens. Em seguida os espécimes foram depositados na Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, sob título de “Coleção Mata Atlântica, REBIO de Poço das Antas”.

### **Análise dos dados**

Os dados climáticos pluviosidade, umidade relativa do ar e de temperatura média mensal obtidos no INEA, 2016, estação de Juturnaíba foram analisados de maneira a expressar a relação ecológica existente entre as populações dos mosquitos com a frequência mensal, possibilitando a análise populacional dos meses de coletas, para esse estudo utilizamos correlação de Spearman com auxílio do software IBM® SPSS® Statistics Versão 23.

Para avaliar e comparar diferenças na composição da comunidade de mosquitos em cada ponto de captura foram utilizados a análise de normalidade dos dados pelo método de Shapiro-Wilk.

Já os índices de diversidade foram calculados baseando-se Shannon-Wiener (log na base 2) e Simpson, dominância baseando-se em (BERGER; PARKER, 1970) e Simpson. A equidade foi testada por Shannon-Wiener (Piellou), Simpson e Índice equidade de Hill Modificado (EH). A riqueza foi estimada pelo índice de Jackknife de 1ª ordem. Na realização de cada análise foram considerados tipos de armadilhas, locais e ano de coleta.

Realizamos a comparação das diversidades entre si, através do teste T, para Shannon-Wiener e correlações de Spearman das frequências absolutas de ocorrências de adultos entre os meses de ocorrência e pontos de capturas.

A análise de cluster foi realizada pelo método Euclidiano completo comparando ponto de amostragem e por período de captura.

Para realização de todos esses testes foi utilizado o Softwar R Core Team, DivEs – Diversidade de Espécies v4.0 e PAST – Paleontologicas STatistical v.3.11.

As mensurações das principais estruturas dos ovos de Culicidae foram obtidas diretamente nas imagens, com o auxílio do sistema de gravação de imagens digitais Semafore lenta varredura, versão 3.1 © (Insinooritoi misto J. Rimppi Oy, Finlândia) e analisados utilizando um controle MEV versão User Interface 8,24 © (Jeol Technichs Ltd), acoplado ao microscópio JEOL JSM 6390LV (Akishima, Tóquio, Japão).

Para avaliar a identidade taxonômica de *Cx. ribeirensis* e *Cx. pedroi*, foi utilizado o DNA barcoding. Realizamos a edição das sequências obtidas no programa Bioedit 7.2.3 (HALL, 1999) e a delimitação das espécies mediante análise filogenética foram realizadas utilizando sequência de COI depositadas nos bancos de dados (GeneBank), para reconstrução da árvore filogenética sem raiz foi utilizado o método Neighbor-joining e o modelo de distância de KIMURA, 1980 dois parâmetros.

Para avaliar diversidade de Culicidae de hábito acrodendrófilo foram utilizados os índices: Shannon-Weaner (diversidade), Margalef e Menhinick (riqueza), Dominância, Abundância, Índice de Similaridade de Sørensen (IS) e Dominância, com o auxílio o programa DIVES - Diversidade de Espécies v2.0 – Copyright© 2007, W.C. Rodrigues (Lizaro Soft).

A similaridade na composição das espécies entre os locais de amostragem foi avaliada usando o índice de Sørensen:  $(IS) = 2C / (S_A + S_B)$ .

A dominância das espécies foi definida de acordo com as categorias estabelecidas por (FRIEBE, 1983). Para avaliar as espécies mais abundantes de mosquitos em cada área foi utilizado o “Índice de abundância de espécies” (IAE), que foi convertido em uma escala entre zero e um pelo “índice padronizado de abundância de espécies” (IPAE), segundo as definições de (ROBERTS; HSI, 1979).

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.; GUIMARÃES, A. E.; MELLO, R. P. LOPES, C. M.; DÉGALLIER, N.; SANTOS-MALLET, J. R. Microscopia eletrônica de varredura de ovos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 5, p. 657–661, 2003.

ALENCAR, J. GUIMARÃES, A. E.; GIL-SANTANA, H. R.; SANTOS-MALLET, J. R. Scanning electron microscopy of eggs of *Ochlerotatus (Protomacleaya) terreus* Walker. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 21, n. 4, p. 355–359, 2005.

ALENCAR, J.; MELLO, C. F.; GUIMARAES, A. E.; GIL-SANTANA, H. R.; SANTOS S. J. DOS.; SANTOS-MALLET, J. R.; GLEISER, R. M. Culicidae community composition and temporal dynamics in Guapiaçu ecological reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 1–16, 2015.

ALENCAR, J.; MELLO, C. F.; SERRA-FREIRE, N. M.; GUIMARÃES, A. E.; GIL-SANTANA, H. R.; GLEISER, R. M. Biodiversidade e distribuição temporal da Imaturo Culicidae na Mata Atlântica, Estado do Rio de Janeiro , Brasil. **Plos One**, v. 11, n. 7, p. 1–9, 2016.

ALMEIDA, F. F. L.; DAVID E GORLA. The Biology of *Aedes (Ochlerotatus) albifasciatus* Macquart, 1838 (Diptera: Culicidae) in Central Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo cruz**, v. 90, n. 4, p. 463–468, 1995.

ARRUDA, M. B.; SÁ, L. F. S. N. DE. **Corredores ecológicos: Uma abordagem integradora de ecossistemas no Brasil**. 1. ed. Brasília: IBAMA, 2003.

BARKER-HUDSON, P.; JONES, R.; KAY, B. H. Categorization of domestic breeding habits of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Northern Queensland, Australia. **Journal Medical Entomology**, v. 25, n. 3, p. 178–182, 1988.

BATISTA, M. E. P.; SILVA, D.C.; SALES, M. A. F; SÁ, A. A.; SARAIVA, A. A. F.; LOIOLA, M. I. B. New data on the stem and leaf anatomy of two conifers from the Lower Cretaceous of the Araripe Basin, northeastern Brazil, and their taxonomic and paleoecological implications. **Plos One**, v. 12, n. 3, p. 1–18, 2017.

BENTLEY, M. D.; DAY, J. F. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. **Annual Reviews Entomology**, v. 34, p. 402–421, 1989.

BERGER, W. H.; PARKER, F. L. Diversity of planktonic foraminifera in deep-sea sediments. **Science**, v. 168, n. 3937, p. 1345–1347, 1970.

BORTOLUS, A. Error Cascades in the Biological Sciences : The Unwanted Consequences of Using Bad Taxonomy in Ecology. **Journal of the Human Environment**, v. 37, n. 2, p. 114–118, 2008.

BRASIL. **Decreto nº 23.793, de 23 de janeiro de 1934, Approva o código florestal que com este baixa**, 1934. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/1930-1949/d23793.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1930-1949/d23793.htm)>

BRASIL. **Lei nº 4.771, de 15 de setembro de 1965. Institui o novo Código Florestal**., 1965. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1960-1969/lei-4771-15-setembro-1965-369026-normaatualizada-pl.html>>

BRASIL. **Lei nº 5.197, de 03 de janeiro de 1967. Cria o Instituto Brasileiro do Desenvolvimento Florestal e dá outras providências**, 1967a. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto-lei/1965-1988/Del0289.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/1965-1988/Del0289.htm)>

BRASIL. **Lei nº 5.197, de 03 de janeiro de 1967. Dispõe sobre a proteção à fauna e dá outras providências**, 1967b. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1960-1969/lei-5197-3-janeiro-1967-364679-normaatualizada-pl.html>>

BRASIL. Decreto nº 76.534, de 3 de novembro de 1975. **Dá nova delimitação à área definida pelo art. 3º do Decreto nº 73.791, de 11 de março de 1974, que cria a Reserva Biológica Nacional de Poço das Antas, no Estado do Rio de Janeiro.** Rio de Janeiro, 1975. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1970-1979/decreto-76534-3-novembro-1975-425139-publicacaooriginal-1-pe.html>>

BRASIL. Lei nº 6.902, de 27 de abril de 1981. **Dispõe sobre a criação de Estações Ecológicas, Áreas de Proteção Ambiental e dá outras providências,** 1981. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1980-1987/lei-6902-27-abril-1981-371587-normaatualizada-pl.html>>

BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. **Regulamenta o art. 225, § 1º, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências.,** 2000. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L9985.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9985.htm)>

BRASIL. Lei nº 11.516, de 28 de agosto de 2007. **Dispõe sobre a criação do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - Instituto Chico Mendes; altera as Leis nos 7.735, de 22 de fevereiro de 1989, 11.284, de 2 de março de 2006, 9.985, de 18 de julho ,** 2007. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2007/lei/11516.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/11516.htm)>

BUENO-SILVA, M. Genética molecular e sistemática animal: Um breve histórico, contribuições e desafios. **Estudos de Biologia**, v. 34, n. 421, p. 157, 2012.

BUENO, E. **Náufragos, traficantes e degredados: as primeiras expedições ao Brasil.** 2. ed. Rio de Janeiro: Objetiva, 1998.

BUENO, E. **Pau Brasil.** 1. ed. São Paulo: Axis Mundi, 2002.

CHRISTOPHERS. ***Aedes aegypti* the yellow fever mosquito.** 1. ed. London: Syndics Of The Cambridge University Press, 1960.

CLEMENTS, A. N. **The Physiology of Mosquitoes**. Pergamon press, 1963. v. 17

COLWELL, R. R. Polyphasic taxonomy of bacteria. **Culture Collections of Microorganisms**, p. 421–436, 1970.

CONAMA. **Resolução/CONAMA/n.º 010 de 03 de dezembro de 1987. Dispõe sobre o ressarcimento de danos ambientais causados por obras de grande porte**, 1987. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=61>>

CONAMA. **Resolução Nº 02, DE 18 de abril de 1996. Determina a implantação de unidade de conservação de domínio público e uso indireto, preferencialmente Estação Ecológica, a ser exigida em licenciamento de empreendimentos de relevante impacto ambiental, como repar**, 1996. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=201>>

CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994.

COSTA, J. P. D. O. **Reserva da Biosfera da Mata Atlântica**. 6. ed. São Paulo: UNESCO, 1997.

DARWIN, C. **Natural History and Geology of the Countries Visited During the Voyage of H.M.S. Beagle round the world**. 1. ed. London: Harper & Brothers, 1860.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura - Aplicações e preparação de amostras - Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores. Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**, p. 60, 2007.

DOCILE, T. N.; FIGUEIRÓ, R.; HONÓRIO, N. A.; BAPTISTA, D. F.; PEREIRA, G.; DOS SANTOS, J. A. A.; CODEÇO, C. T. Frequency of *Aedes* sp. Linnaeus (Diptera: Culicidae) and Associated Entomofauna in Bromeliads from a Forest Patch within a densely Urbanized Area. **Neotropical Entomology**, 2017.

FARAN & LINTHICUM. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics**, v. 13, n. 1, p. 001–081, 1981.

FAY, R. W.; ALIASON, D. A. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes Aegypti*. **Mosquito News**, v. 26, n. 4, p. 531–535, 1966.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L.; GONCALVES-ESTEVEZ, V. Pollen morphology of the genera *Irlbachia*, *Tachia*, *Voyria* and *Voyriella* (Gentianaceae Juss.) found in the Reserva Florestal Adolpho Ducke (Amazonas, Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p. 916–923, 2012.

FOCKS, D. A.; MCLAUGHLIN, R. E.; SMITH, B. M. A dynamic life table model of *Psorophora columbiae* in the southern Louisiana rice agroecosystem with supporting hydrologic submodel. Part 2. Model validation and population dynamics. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 4, p. 282–299, 1988.

FOLMER, O. BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 294–299, 1994.

FORATTINI, O. P. **Entomologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 1965.

FORATTINI, O. P. Identificação de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 20(3), p. 244–245, 1986.

FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 3--Survey of adult stages at the rice irrigation system and the emergence of *Anopheles albitarsis* in south-eastern, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 5, p. 313–325, 1993a.

FORATTINI, O. P. KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 2. Immature stages research at a rice irrigation system location in south-eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 4, p. 227–236, 1993b.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 1. ed. São Paulo: EDUSP, 1996.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 2002.

FRANK, J. H.; CURTIS, G. A.; EVANS, H. T. On The Bionomics Of Bromeliad-Inhabiting Mosquitoes II. The Relationship of Bromeliad Size To The Number Of Immature *Wyeomyia Vanduzeei* and *Wy. Medioalbipes*. **Mosquito News**, v. 37, n. 2, p. 180–192, 1977.

FRIEBE, B. Zur Biologie eines Buchenwaldbodens. 3. Die Kaferfauna. **Beitrage zur naturkundlichen Forschung in Sudwestdeutschland**, 1983.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Fundação SOS Mata atlântica**. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/>>. Acesso em: 5 jul. 2017.

GALINDO, P. A note on the oviposition behavior of *Sabethes (Sabethoides) Chloripterus Humboldt*. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 59, n. 6, p. 287–288, 1957.

GARCIA, M.; ODEBRECHT, C. Chave dicotômica ilustrada para a identificação de espécies de *Thalassiosira Cleve* (diatomácea) no estuário da Lagoa dos Patos e área costeira adjacente (Rio Grande do Sul, Brasil). **Biota Neotropica**, v. 9, n. 2, p. 239–253, 2009.

GENTRY, A. H. The distribution and evolution of climbing plants. **The biology of vines**, p. 3–49, 1991.

GOELDI, E. A. Os mosquitos no Pará. Reunião de quatro trabalhos sobre os mosquitos indigenas, principalmente as especies que molestam o homem. **Memórias do Museu Goeldi de História Natural e Ethnographia**, p. 244, 1905.

GOMES, C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. **IESUS**, v. 7, n. 3, p. 49–57, 1998.

GRIMSTONE, A. V. **O microscópio eletrônico em Biologia**. São Paulo: EDUSP, 1980. v. 11.

HAEGER, J. S.; PHINIZEE, J. Crabhole Mosquito, *Deinocerites cancer* Theobald (Insecta: Diptera: Culicidae). **Proc. Florida Anti-Mosq. Assoc**, v. 30, p. 34–37, 1959.

HALL, T. A. **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT**. nucleic Acids Symposium Series. **Anais...Oxford University Press**, 1999

HARBACH, R. E. The Culicidae (Diptera): A review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v. 638, n. 1668, p. 591–638, 2007.

HERMS, W. B.; FREEBORN, S. B. The Egg Laying Habits of Californian Anophelines. **The Journal of Parasitology**, v. 7, n. 2, p. 69–79, 1920.

IBDF. **Plano de Manejo da Reserva Biológica de Poço das Antas**. Brasília: ICMBIO, 1980.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e bioestatística**. Rio de janeiro: IBGE, 2012. Disponível em: <file:///D:/1-FIOCRUZ/1-Mestrado/1-Disciplinas/12-Dissertação 2017/Artigos consultados/IBGE 2012.pdf>.

ICMBIO. **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade**. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros>>. Acesso em: 5 jul. 2017.

INEA. **Instituto Estadual do Ambiente**. Disponível em: <<http://200.20.53.3:8081/Portal/index.htm>>. Acesso em: 14 jul. 2017.

JOHN LANE. **Neotropical Culicidae VOL II**. 1. ed. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1953.

KELLNER, A. W. A.; SCHWANKE, C.; CAMPOS, D. A. O Brasil no tempo dos dinossauros. **Museu Nacional**, p. 60, 1999.

KENNEDY, J. S. On water-finding and oviposition by captive mosquitoes. **Bulletin of Entomological Research**, v. 32, n. 1922, p. 279–301, 1942.

KIMURA, M. Journal of Molecular Evolution ©. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 1330, p. 111–120, 1980.

KNOLL, M. Aufladepotential und Sekundäremission elektronenbestrahlter Körper. **Z Technical Physics**, v. 16, p. 467–475, 1935.

LAMBORN, W. A. Some problems of the breeding-places of the anophelines of malaya : a contribution towards their solution. **Bulletin Of Entomological Research**, v. XIII, p. 1–11, 1922.

LINLEY, J. R. Scanning Electron Microscopy of the Egg of *Aedes (Protomacleaya) triseriatus* (Diptera : Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 26, n. 5, p. 474–478, 1989a.

LINLEY, J. R. Comparative Fine Structure of the Eggs of *Aedes albopictus*, *Ae. aegypti*, and *Ae. bahamensis* (Diptera : Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, p. 510–521, 1989b.

LINLEY, J. R. Egg of *Mansonia dyari* Described and Compared with Egg of *Mansonia titillans* (Diptera : Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 26, n. 1, p. 41–45, 1989c.

LINLEY, J. R.; CHADEE, D. D. Fine structure of the eggs of *Psorophora Columbiae*, *Ps. Cingulata* and *Ps. ferox* (Diptera: Culicidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 92, n. 3, p. 497–511, 1990.

LOPES, J. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado de Paraná,, Brasil. V. coleta de de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 4, p. 370–377, 1997.

LOZOVEI, A. L. Microhabitats de mosquitos (Diptera, Culicidae) em internódios de Taquara na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. **Iheringia**, n. 90, p. 3–13, 2001.

MACAN, B. Y. T. T. Factors that limit the range of freshwater animals. **Biological Reviews - Freshwater Biological Association**, v. 36, n. 151, p. 198, 1961.

MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera : Culicidae ) do Brasil. v. 21, n. 3, p. 221–238, 2010.

MARQUES, T. C. BOURKE, B. P.; LAPORTA, G. Z.; SALLUM, M. A. M. Mosquito (Diptera: Culicidae) assemblages associated with Nidularium and Vriesea bromeliads in Serra do Mar, Atlantic Forest, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 5, p. 41, 2012.

MARSOLA, J. C. DE A. GRELLET-TINNER, G.; MONTEFELTRO, F. C.; SAYÃO, J. M.; HSIU, A. S.; LANGER, M. C. The first fossil avian egg from Brazil. **Alcheringa: An Australasian Journal of Palaeontology**, v. 38, n. 4, p. 563–567, 2014.

MARTINS, R.; BARBEITOS, M. S. Adaptações de insetos a mudanças no ambiente: Ecologia e Evolução da diapausa. **Oecologia Brasiliensis**, v. 8, p. 149–192, 2000.

MATSUO & KUNOU. The Scanning Electron Microscopy of Mosquitoes. **Journal Kyoto Prefectural University of Medicine**, v. 81, n. 7, p. 358–363, 1972.

MELLO, C. F. DE.; SANTOS-MALLET, J. R. DOS.; MORONE, F.; GUIMARÃES, A. É.; MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J. Ultrastructure of the egg of *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas, 1907) (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 39, n. 1, p. 219–221, 2014.

METZ, C. *Anopheles Crucians*: Habits of Larvæ and Adults. **Public Health Reports**, v. 33, n. 49, p. 2156–2169, 1918.

MMA. **Mistério do Meio Ambiente - Brasil**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlantica>>. Acesso em: 5 jul. 2017.

MOAWED, M.; IBRAHIM, S. Discrimination between some species of *Zygophyllaceae* based on SEM and Start Codon Targeted (Scot) markers. **The Egyptian Journal of Experimental Biology (botany)**, v. 12, n. 1, p. 1, 2016.

MONTEIRO, F. A.; PAVAN, M. G.; MONTEIRO, F. A. Técnicas moleculares aplicadas à sistemática e ao controle vetorial. In: **Vetores da doença de Chagas no Brasil**. 1. ed. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014. p. 241–260.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; FIGUEIRA-MANSUR, J. Resistência e Inseticidas: Estratégias, Desafios e Perspectivas no Controle de Insetos. **Tópicos Avançados em Entomologia Molecular**, p. 1–23, 2012.

NAGATANI, T. SAITO, S.; SATO, M.; YAMADA, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in—lens system. **Scanning Microscopy**, v. 1, n. 3, p. 901–909, 1987.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205–207, 2002.

NAYAR, J. K.; SAUERMAN, D. M. A comparative study of flight performance and fuel utilization as a function of age in females of florida mosquitoes. **journal insect physiology**, v. 19, n. 1977, p. 1988, 1973.

OBARA, M. T. ROSA, J. A. DA.; SILVA, N. N. DA.; CERETTI JR., W.; URBINATTI, P. R.; BARATA, J. M. S.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. Estudo morfológico e histológico dos ovos de seis espécies do gênero *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 5, p. 798–806, 2007.

PINTO, I. DE S.; CHAGAS, B. D. DAS.; RODRIGUES, F. A. A.; FERREIRA, A. L.; REZENDE, H. R.; BRUNO, R. V.; FALQUETO, A.; ANDRADE-FILHO, J. D.; GALATI, E. A. B.; SHIMABUKURO, P. H. F.; R. P. BRAZIL; PEIXOTO, A. A. DNA Barcoding of Neotropical Sand Flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): Species Identification and Discovery within Brazil. **Plos One**, 2015.

PRADO, P. **Retrato do Brasil**. 10. ed. São Paulo: Companhia das Letras, 2012.

QUEIROZ, K. DE. Species Concepts and Species Delimitation. **Systematic Biology**, v. 56, n. 6, p. 879–886, 2007.

REINERT, J. F. Mosquito Systematics. **Mosquito Systematics**, v. 7, n. 2, p. 105–110, 1975.

REINERT, J. F. New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), Elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 16, n. 3, p. 175–188, 2000.

REINERT, J. F. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 17, n. 1, p. 51–55, 2001.

REINERT, J. F. Species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) with published illustrations and/or descriptions of eggs – Summary. **European Mosquito Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 182–186, 2010.

REINERT, J. F.; HARBACH, R. E.; KITCHING, I. A. N. J. Phylogeny and classification of *Ochlerotatus* and allied taxa (Diptera: Culicidae: Aedini) based on morphological data from all life stages. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 153, p. 29–114, 2008.

REINERT, J.; HARBACH, R.; SALLUM, M. Checklist of aedine mosquito species (Diptera, Culicidae, Aedini) occurring in Middle and South America (south of the United

States) reflecting current generic and subgeneric status. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 49, n. 2, p. 249–252, 2005.

REISEN, W. K. Landscape Epidemiology of Vector-Borne Diseases. **Annual Review of Entomology**, v. 55, p. 461–483, 2010.

ROBERTS, D. R.; HSI, B. P. An Index of Species Abundance for Use with Mosquito Surveillance. **Environmental Entomology**, v. 8, n. 6, p. 1007–1013, 1979.

RUDOLFS, W.; LACKEY, J. B. The composition of water and mosquito breeding. **American Journal of Hygiene**, v. 9, n. 1680, p. 160–180, 1928.

RUNTE, A. **National Parks, the American experience**. 4. ed. Nebraska: Taylor Trade Publishing, 2010.

SANTOS-MALLET, J. R. DOS.; GLEISER, R. M.; ALENCAR, J.; MARQUES, W. DE. A.; SARMENTO, J. S.; MÜLLER, G. A.; MARCONDES, C. B. Scanning electron microscopy of the egg of *Ochlerotatus albifasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, v. 46, n. 5, p. 980–985, 2009.

SANTOS-MALLET, J. R. DOS.; GLEISER, R. M.; ALENCAR, J.; MARQUES, W. DE. A.; SARMENTO, J. S.; MARCONDES, C. B.. Scanning Electron Microscopy of the Eggs of *Aedes scapularis* from Southern South America. **Journal of American Mosquito Control Association**, v. 26, n. 2, p. 205–209, 2010.

SANTOS NETO, L. G. DOS; MARQUES, C. C. DE A. Sobre alguns ovos de mosquitos (Diptera, Culicidae) que colonizam recipientes artificiais. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 40, n. 1, p. 17–20, 1996.

SAPORTA, L. A. C.; YOUNG, C. E. F. Créditos de carbono e o reflorestamento do entorno da REBIO de Poços das Antas , Brasil. **Revista Iberoamericana**, v. 12, p. 17–32, 2009.

SENIOR-WHITE, R. Physical factors in mosquito ecology. **Bulletin Entomology**, v. 16, p.

187–248, 1926.

SENIOR-WHITE, R. Algae And the food of anopheline larvae. **Indian Journal of Medical Research**, v. 15, n. 4, p. 969–988, 1928.

SILVA, A. M.; ARAÚJO, R.; FILHO, E. C. S. Immatures of *Wyeomyia (Tryomyia) aporonoma* (Diptera: Culicidae) Collected in Artificial Breeding in the South Brazil. **EntomoBrasilis**, v. 9, n. 2, p. 140–142, 2016.

SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE. Epidemiologia e Serviços de Saúde. **2011**, v. 20, p. 150, 2011.

SLANSKY JR., F.; RODRIGUEZ., J. G. **Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates**. 1. ed. New York: John Wiley & Sons, 1987.

SNOW, W. E.; PICKARD, E.; HAWKINS, J. L. Observations on the Biology of *Psorophora cyanescens*. **Journal of Economic Entomology**, v. 53, n. 4, p. 619–621, 1960.

SOUZA, S. P. CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; GUIMARÃES, L. G. L.; ANDRADE, J.; MALLET, A. C. T.; NELSON, D. L. Óleo essencial de *Baccharis tridentata* vahl: Composição química, atividade antioxidante e fungitóxica, e caracterização morfológica das estruturas secretoras por microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 456–466, 2011.

TAKAHASHI, M. Fossil spores and pollen grains of cretaceous (Upper campanian) from Sakhalin, Russia. **Journal of Plant Research**, v. 110, n. 2, p. 283–298, 1997.

TONHASCA, J. **Características e Limites da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Janeiro, Rio de, 2005.

VASCONCELOS, P. F. C. SPERB, A. F.; MONTEIRO, H. A. O.; TORRES, M. A. N.; SOUSA, M. R. S.; VASCONCELOS, H. B.; MARDINI, L. B. L. F.; RODRIGUES, S. G. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul

State, Brazil. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, v. 97, p. 60–62, 2003.

WALLIS, B. C. A study of opposition activity of mosquitoes. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 1, p. 135–168, 1954.

YANG, S.; ROTHMAN, R. E. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. **Infectious Diseases**, v. 4, p. 337–348, 2004.

ZAVORTKINK, T. The dismal state of mosquito systematics: perspectives of a classical taxonomist. **Bulletin of the Society of Vector Ecologists**, v. 19, n. 1, p. 69–72, 1994.

ZWORYKIN, V.; HILLER, J.; SNYDER, R. L. An early history of the electron microscopy. **ASTM Bulletin**, 1942.

## CAPÍTULO I

# DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO LOCAL DE CULICIDAE EM ÁREA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

*Manuscrito submetido à Revista Plos One*

### Resumo

O conhecimento da biodiversidade de mosquitos na Mata Atlântica é muito importante para avaliações das mudanças no padrão das atividades de suas populações, até então considerados como de hábito preferencialmente silvestre. Foi realizado um estudo observacional da fauna de Culicidae em uma área remanescente de Mata Atlântica na Reserva Biológica de Poço das Antas, município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro, Brasil, que teve como objetivo avaliar a diversidade e a influência dos fatores climáticos sobre a distribuição das espécies. Para captura foram utilizados dois tipos de armadilha luminosa: CDCs automáticas com CO<sub>2</sub> e Shannon. Também foi realizada captura com auxílio de tubo de sucção manual após atração ocasional dos espécimes pelos membros da equipe de pesquisa. No total foram capturados 15.700 espécimes de Culicidae de duas subfamílias, 12 gêneros e 41 espécies. As espécies mais representativas foram: *Coquillettidia chrysonotum*, *Mansonia titillans* e *Cq. venezuelensis*. Os índices de diversidade demonstraram que as armadilhas luminosas de CDC apresentaram maior diversidade (Shannon-Wiener e Simpson - 3,4421 e 0,8673), riqueza (S<sub>Max</sub> - 51; s<sup>2</sup> - 0,75; S<sub>Obs</sub> - 34) e equidade. No período amostral do ano 2014, o ponto de amostragem com maior concentração de plantas endêmicas também apresentou maior diversidade específica (Shannon-Wiener e Simpson - 3,2061 e 0,8626). Enquanto que no ano de 2015, o ponto de mata de alagado foi mais diverso (Shannon-Wiener - 3,0102 e Simpson - 0,8262) e a dominância foi maior no ponto com maior concentração de plantas endêmicas. A abundância dos culicídeos correlacionou-se positivamente com a temperatura. Considerando fortemente a diversidade de espécies de mosquitos na Reserva Biológica de Poço das Antas e o seu papel potencial para transmissão de patógenos, combinado com um fluxo intermitente de visitantes na área de estudo, reforça que a atividade de vigilância entomológica deve ser contínua na região estudada.

**Palavras- Chave:** Culicidae, Mata Atlântica, Vetores, Fatores climáticos

## Abstract

Knowledge of mosquito biodiversity in the Atlantic Forest is of great importance for evaluating changes in the pattern of mosquito population distributions, which were until now considered to be predominantly sylvatic. An observational study of the Culicidae fauna was conducted in a remnant area of the Atlantic Forest in the Poço das Antas Biological Reserve, Silva Jardim municipality, Rio de Janeiro, Brazil. The objective was to evaluate the diversity and influence of climatic factors on the distribution of species. Two types of light traps were used for capture: an automatic CDC trap with CO<sub>2</sub> and a Shannon trap. Members of the research team also performed captures with the aid of a manual suction tube when the specimens were attracted. In total, 15,700 specimens of Culicidae were collected from 2 subfamilies, 12 genera, and 41 species. The most representative species were *Coquillettidia chrysonotum*, *Mansonia titillans*, and *Cq. venezuelensis*. Diversity indices show that the CDC light traps captured greater diversity (Shannon-Wiener and Simpson - 3.4421 and 0.8673), richness ( $S_{Max}$  - 51;  $s^2$  - 0.75;  $S_{Obs}$  - 34), and equity. In 2014, the sampling point with the highest concentration of endemic plants also had higher specific diversity (Shannon-Wiener and Simpson - 3.2061 and 0.8626). In 2015, a flooded area was most diverse (Shannon-Wiener - 3.0102 and Simpson - 0.8262), while dominance was highest in an area with the highest concentration of endemic plants. The abundance of Culicidae correlated positively with temperature. Considering the diversity of mosquito species in the Poço das Antas Biological Reserve and its potential role in the transmission of pathogens, combined with an intermittent flow of visitors in the area, it is important to maintain continuous entomological surveillance in the region.

**Keywords:** Culicidae, Atlantic Forest, Vectors, Climatic factors

## INTRODUÇÃO

Apesar das florestas tropicais possuírem a maior parte da diversidade de vetores dentre todos os biomas terrestres, observa-se, provavelmente por este mesmo motivo, que é onde se encontram os maiores hiatos no conhecimento da estrutura e composição da sua fauna. O Brasil, com alta biodiversidade, enfrentando uma alarmante destruição de habitats, com espécies sendo extintas antes que possam ser descobertas ou descritas pela ciência, tem uma necessidade urgente de ampliação dos inventários faunísticos, incluindo levantamentos da entomofauna.

Os mosquitos têm uma distribuição cosmopolita. Devido a estarem envolvidos na transmissão de muitos agentes patogênicos importantes, como arbovírus (agentes causadores de Zika, Dengue, Chikungunya, Febre amarela, etc.) e parasitas da Malária, tem atraído grande atenção (FORATTINI, 2002), e causando sérios problemas de saúde pública no Brasil.

Existem 3.549 espécies de mosquitos reconhecidas distribuídas em aproximadamente 112 gêneros (HARBACH, 2008) ou 42 gêneros de acordo com a classificação mais tradicional de (WILKERSON et al., 2015). A região neotropical possui o maior nível de endemidade, já que 27% das espécies estão restritas a esta região biogeográfica (ALENCAR et al., 2016).

Estudos sobre os aspectos ecológicos da fauna de culicídeos vêm sendo realizados em diversas áreas de diferentes estados do Brasil. No Estado do Rio de Janeiro, por exemplo, a maioria dos estudos da entomofauna, responsável pela transmissão da maioria das doenças humanas, tem sido feito, de uma maneira geral, em função do diagnóstico dos agravos causados por patógenos por eles transmitidos.

O conhecimento da biodiversidade das comunidades de mosquitos em ambiente de Mata Atlântica, seja durante os processos de ação antrópica ou nos possíveis períodos de recuperação da cobertura vegetal, é de relevante importância para avaliações das possíveis mudanças de comportamentos e adaptações no padrão de atividades exercidas por populações de mosquitos, até então considerados como de hábito exclusivamente silvestre. A diversidade de comunidades pode ter efeitos significativos sobre o risco de transmissão de patógenos para humanos por organismos vetores (KEESING; HOLT; OSTFELD, 2006). Por um lado, a variedade de hospedeiros e/ou vetores pode reduzir o risco de exposição a agentes patogênicos por um "efeito de diluição", reduzindo a taxa de encontros entre vetores e hospedeiro suscetível a ingestão sanguínea e regulando populações de vetores, entre outros

mecanismos. Esta conexão entre a diversidade de espécies e a transmissão da doença por vetores baseia-se na zooprofilaxia, utilizando os animais silvestres que atraem insetos hematófagos e, portanto, os afastando dos seres humanos.

O conhecimento da fauna culicidiana silvestre também nos serve de base para avaliar o grau de alterações ocorridas em determinada região. Algumas espécies podem atuar como bioindicadores dessas modificações, seja pelo aumento ou diminuição em sua densidade ou até mesmo a sua possível ausência (FORATTINI; MASSAD, 1998).

Os indicadores biológicos são muito úteis devido à sua especificidade a certos tipos de impacto, já que inúmeras espécies são comprovadamente sensíveis a um tipo de poluente ou outra influência, podendo ser mais tolerantes a outros. Desse modo, quando se propõe estudos prolongados sobre a ecologia da entomofauna de vetores, é muito importante ter-se a perspectiva que o habitat a ser estudado não sofrerá alterações, para que os resultados estejam muito próximos do ambiente natural. A ausência direta dos efeitos da ação antrópica nos permite o conhecimento da dinâmica das populações silvestres, de forma sistemática, possibilita estabelecer a ecologia do grupo de forma mais abrangente.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a diversidade e a influência dos fatores climáticos (temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade) sobre a distribuição das espécies de Culicidae na Reserva Biológica de Poço das Antas, município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

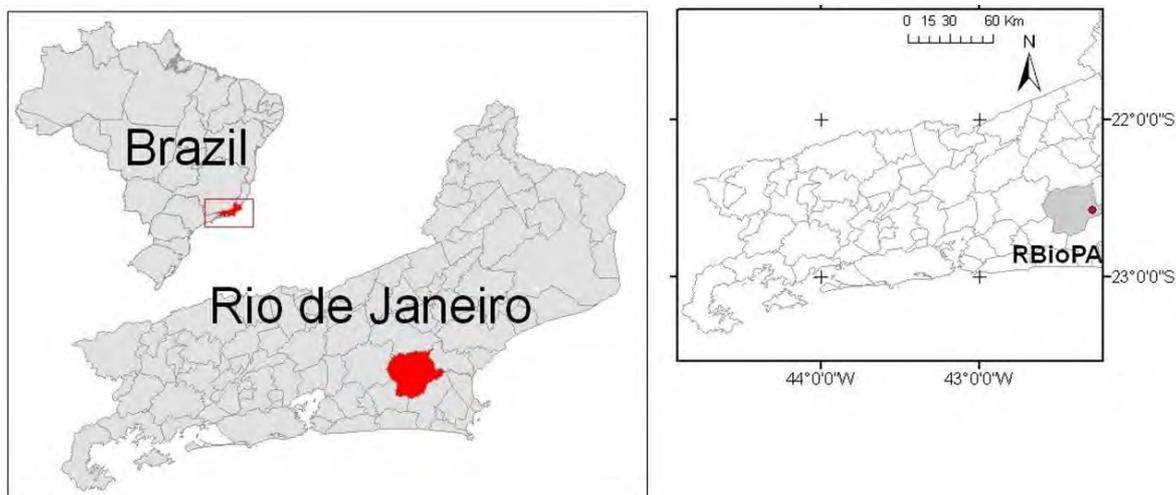
### **Declaração de ética**

O projeto na área da Reserva Biológica de Poço das Antas teve autorização de coleta, captura e transporte de material zoológico (Nº 44333-1) com data da emissão em 05/06/2014, Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO. Todos os membros da equipe de coleta estavam devidamente vacinados contra o vírus da febre amarela e com conhecimento dos possíveis riscos da área estudada.

### **Área de estudo**

As coletas foram realizadas na Reserva Biológica de Poço das Antas (22° 30' - 22° 33'

S, 42° 05' - 42° 19' O) que está situada no município de Silva Jardim, estado do Rio de Janeiro, com superfície de cerca de 5000 ha (Figura I.1).



**Figura I. 1** Local de estudo, Reserva Biológica Poços das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.

Nos tempos anteriores à criação da Reserva, a região abrigava diversas fazendas de criação de gado, onde havia algumas culturas de subsistência, pomares, pastos e remanescentes florestais. A cobertura vegetal da reserva é atualmente constituída por áreas de formação pioneira com influência fluvial, campos antrópicos, capoeiras aluviais, capoeiras submontanas, florestas aluviais e florestas submontanas (IBDF/FBCN, 1981). Os fragmentos florestais remanescentes são testemunhos das matas que originalmente recobriam as planícies aluviais e morros mamelonares da planície costeira do Rio de Janeiro. O clima da região é quente e úmido com estação chuvosa no verão, sem inverno pronunciado e as temperaturas médias anuais são elevadas durante quase todo o ano. A média das temperaturas máximas é de 30°C - 32°C e as mínimas não ultrapassam os 18°C. A precipitação média anual é de 1.000 mm e está concentrada nos meses de outubro a abril, sendo julho e agosto os meses menos chuvosos (IBDF/FBCN, 1981).

Foram selecionados seis pontos de amostragens (nomeado locais de coletas REBIO 1, 2, 3, 4, 5 e 6), visando estabelecer a influência exercida pela cobertura vegetal e variações entre diferentes biótopos, inseridos em conjunto de maciços montanhosos de rochas alcalinas geradas num período de atividade vulcânica, entre o final do Cretáceo e o início do Terciário, decorrente da abertura do oceano Atlântico (DANTAS, 2001).

REBIO 1: Localiza-se a cerca de 900 metros da entrada da reserva biológica, com cobertura vegetal ricamente composta por plantas endêmicas da região; REBIO 2: Vegetação de médio porte, com predomínio da monocultura de bambual; REBIO 3: mata ciliar localizada às margens de córrego, estando frequentemente sujeita a alagamento durante o período das chuvas; REBIO 4: Mata com vegetação em estágio avançado de regeneração, em trecho no qual operou uma ferrovia que atravessava trechos da reserva; REBIO 5: Apresenta vegetação secundária de Mata Atlântica, com recomposição florística semelhante à mata original; REBIO 6: área inundável com porções de vegetação de porte arbóreo (Mata-Alagados), herbáceo e aquático (Brejo). As coordenadas geográficas dos pontos de amostragem foram obtidas utilizando um Garmin GPSmap 60CS GPS. Os mapas foram confeccionados em Arcview 10® e editados em Adobe Photoshop CS5® e CorelDraw X5®.

As amostragens foram realizadas durante três dias consecutivos, nos meses de junho, julho, setembro, outubro, novembro e dezembro de 2014 e fevereiro, março, abril, maio e junho de 2015. Foram utilizados dois tipos de armadilha luminosa: CDCs automáticas com CO<sub>2</sub>® e Shannon, além da captura com auxílio do tubo de sucção manual para os espécimes atraídos ocasionalmente pelos membros da equipe (EOAM) e aqueles que pousavam na vegetação circunvizinha. O período de coleta com o uso de CDCs foi de 24 horas contínuas, enquanto que com a Shannon e tubo de sucção manual entre 18:00hs e 21:00hs a cada dia. As coletas se repetiram com a mesma metodologia e temporalidade para todos os pontos amostrais. Após as coletas, os mosquitos foram transferidos para gaiolas padronizadas, sendo os mesmos transportados ao laboratório para triagem e identificação, com posterior incorporação à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, sob o título de “Coleção da Mata Atlântica”.

A identificação das espécies foi realizada a partir da observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereomicroscópio (Zeiss®), Microscópio Óptico (Nikon®), e consulta às descrições/diagnoses respectivas das spp., utilizando chaves dicotômicas elaboradas por CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994; FARAN & LINTHICUM, 1981; FORATTINI, 2002; LANE, 1953. Os nomes dos gêneros foram abreviados de acordo com REINERT (2001).

## **Análise dos dados**

O presente estudo utilizou os seguintes Softwares: R Core Team, DivEs – Diversidade de Espécies v4.0 e PAST – Paleontológicas STatistical v.3.11. os pacotes utilizados no R Core Team foram: Ferramentas econométricas para desempenho e análise de risco (Performance Analytics v. 1.4.3541), e Xtensible séries temporais (xts v. 0.9-7), Gramática de gráficos (ggplot2 v. 2.1.0), Laboratório de Computação de Ciência Política, Universidade de Stanford (pscl v. 1.4.9), Correlação policórficos e polissérios (polycor v. 0.7-9), Procedimentos para pesquisa psicológica, psicométrica e de personalidade (psych v. 1.6.9), S3 Infraestrutura para séries temporais regulares e irregulares (Z's Ordered Observations) (zoo v. 1.7-13) e Visualização de uma Matriz de Correlação (coorplot v. 0.77).

Para avaliar e comparar diferenças na composição da comunidade de mosquitos em cada área foram utilizados análise de normalidade dos dados pelo método de Shapiro-Wilk, análise de Diversidade: Shannon-Wiener (log na base 2) e Simpson, Dominância: Simpson e Berger-Parker, Equidade: Equidade de Shannon-Wiener (Piellou), Equidade de Simpson, Índice Equidade de Hill Modificado (EH), Riqueza: Jackknife de 1ª ordem, Correlação de Dados, Análise de Cluster (K means).

Comparou-se as diversidades entre si, através do teste T, para Shannon-Wiener (BROWER, JAMES E. , ZAR, 1997), através do Software DivEs – Diversidade de Espécies v4.0 (RODRIGUES, 2004). Foram calculados os índices de diversidade e equidade baseando-se Shannon-Wiener e Simpson, e dominância baseando-se em Berger-Parker (BERGER; PARKER, 1970) e Simpson.

Os dados de pluviosidade, umidade relativa do ar e de temperatura média mensal foram obtidos no Instituto Estadual do Ambiente (INEA, estação de Juturnaíba). A correlação de Spearman foi utilizada, com auxílio do software IBM® SPSS® Statistics Versão 23, para analisar se houve influência das variáveis climáticas (pluviosidade, temperatura e umidade relativa do ar) na fauna de culicídeos.

## **RESULTADOS**

Considerando todos os pontos de amostrais, foram capturados 15.700 espécimes de Culicidae pertencente a duas subfamílias, 12 gêneros no total de 41 espécies. Algumas dessas espécies têm sido frequentemente incriminadas como vetores de agentes causadores de

doenças ao homem e/ou a outros animais, tais como: *Anopheles albitarsis* Lynch-Arribáizaga, 1878; *An. darlingi* Root, 1926; *Aedes scapularis* (Rondani, 1848); *Culex nigripalpus* Theobald, 1901; *Haemagogus janthinomys* Dyar, 1921; *Coquillettidia venezuelensis* (Theobald, 1912); *Mansonia titillans* (Walker, 1848); e *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819) (Tabela I.1). Comparando o emprego dos dois tipos de armadilha luminosa (CDC e Shannon) como métodos de amostragem ficou evidenciado que as armadilhas de CDC apresentaram maior densidade populacional de espécimes coletados (Tabela I.1).

**Tabela I. 1.** Abundância relativa de adultos de Culicidae coletados por método armadilhas do tipo CDC, Shannon e EOAM na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, no período de junho de 2014 a junho de 2015

Espécies/Autor	2014			2015			Total
	EOAM	CDC	SH	EOAM	CDC	SH	
<i>Ad. (Ady.) squamipennis</i> (Lynch Arribáizaga,1878).	1	36	115	0	26	1	179
<i>Ae. (Och.) fulvus</i> (Wiedemann, 1828)	0	0	4	1	1	7	13
<i>Ae. (Och.) scapularis</i> (Rondani, 1848)	163	229	203	4	127	55	781
<i>Ae. (Och.) serratus</i> (Theobald,1901)	11	63	1	9	49	1	134
<i>An. (Nys.) benarrochi</i> Gabaldon, Cova-Garcia & Lopez, 1941.	0	52	4	0	1	0	57
<i>An. (Ano.) mediopunctatus</i> (Lutz), 1903	0	3	4	0	3	4	14
<i>An. (Nys.) albitarsis</i> Lynch Arribáizaga , 1878	0	227	475	0	5	162	869
<i>An. (Nys.) darlingi</i> Root, 1926	0	3	0	0	0	0	3
<i>An. (Ano.) intermedius</i> (Peryassú, 1908)	0	36	0	0	0	0	36
<i>An. (Ste.) kompi</i> Edwards, 1930	0	2	0	0	1	0	3
<i>An. (Ano.) minor</i> Costa Lima,1929	1	0	0	0	0	0	1
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> (Neiva & Pinto, 1922)	5	9	0	0	3	30	47
<i>Cq. (Rhy.) chrysonotum</i> (Theobald, 1912)	2	599	1429	1	657	508	3196
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i> (Theobald,1912)	2	446	867	0	516	597	2428
<i>Cq. (Rhy.) albicosta</i> (Peryassu, 1908)	0	0	0	0	30	35	65
<i>Cx. (Aed.) amazonensis</i> (Lutz, 1905)	0	5	0	0	131	5	141
<i>Cx. (Car.) iridescens</i> (Lutz, 1905)	0	1	0	0	0	0	1
<i>Cx. (Cux.) bidens</i> Dyar & Knab, 1922	0	0	0	1	0	0	1
<i>Cx. (Cux.) declarator</i> Dyar & Knab, 1906	0	0	0	0	76	8	84
<i>Cx. (Mel.) ocosa</i> Dyar & Knab, 1919	0	38	2	0	0	12	52
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i> Sirivanakarn & Belkin, 1980	0	165	1	0	289	0	455
<i>Cx. (Mel.) pilosus</i> (Dyar & Knab,1906)	0	39	0	0	0	1	40
<i>Cx. (Mel.) ribeirensis</i> Forattini & Sallum, 1985	0	1005	0	0	1142	14	2161
<i>Culex</i> sp	0	251	4	0	0	0	255
<i>Culex. (Cux.)</i> sp	0	163	22	2	1225	32	1444
<i>Hg. (Hag.) janthinomys</i> Dyar, 1921	0	0	0	3	1	0	4
<i>Li. durhamii</i> Theobald, 1901	0	0	0	0	2	0	2
<i>Ma. (Man.) humeralis</i> (Dyar & Knab, 1916)	1	42	234	0	19	4	300
<i>Ma. (Man.) indubitans</i> Dyar & Shannon, 1925	4	8	0	0	0	0	12
<i>Ma. (Man.) titillans</i> (Walker,1848).	9	935	1043	2	302	205	2496
<i>Ps. (Jan.) ferox</i> (von Humboldt, 1820)	1	1	0	0	2	0	4
<i>Runchomyia</i> sp	1	0	0	1	5	0	7

Continua...

Continuando...

<i>Ur. (Ura.) apicalis</i> Theobald, 1903	0	21	0	0	62	0	83
<i>Ur. (Ura.) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	0	26	0	0	19	0	45
<i>Ur. (Ura.) geometrica</i> Theobald, 1901	0	13	0	0	0	0	13
<i>Ur. (Ura.) hystera</i> Dyar & Knab, 1913	0	7	0	0	5	0	12
<i>Ur. (Ura.) mathesoni</i> Lane, 1943	0	4	0	0	0	0	4
<i>Ur. (Ura.) pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	0	6	0	0	0	0	6
<i>Wyeomyia</i> sp	0	1	0	1	0	0	2
<i>Ps. (Jan.) albipes</i> (Theobald, 1907)	64	48	53	6	25	11	207
<i>Ru. (Run.) cerqueirai</i> Stone, 1944	0	6	0	0	0	0	6
<i>Ur. (Ura.) incognita</i> Galindo, Blanton, & Peyton, 1954	0	1	0	0	0	0	1
<i>Li. pseudomethysticus</i> (Bonne-Wepster & Bonne, 1919)	0	0	0	1	0	0	1
<i>Cx. nigripalpus</i> Theobald, 1901	0	0	0	0	2	0	2
<i>Cx. dunnii</i> Dyar, 1918	0	0	0	0	33	0	33
<b>TOTAL</b>	<b>265</b>	<b>4491</b>	<b>4461</b>	<b>32</b>	<b>4759</b>	<b>1692</b>	<b>15700</b>

As espécies mais representativas foram: *Cq. chrysonotum* (Peryassú, 1922), *Ma. titillans* e *Cq. venezuelensis*, e as espécies de menor densidade populacional foram: *Uranotaenia incognita* Galindo, Blanton & Peyton, 1954, *Limatus pseudomethysticus* (Bonne-Wepster & Bonne, 1920) e *Cx. bidens* Dyar & Knab, 1922 (Tabela I.1). Ficou evidenciado que a captura por armadilha de CDC foi mais diversificada (Shannon-Wiener e Simpson - 3,4421 e 0,8673, respectivamente) e, por conseguinte a dominância é maior onde a diversidade é menor (EOAM). A maior equidade ocorreu na armadilha de CDC, confirmando a relação desse índice à diversidade. Verificou-se ainda, a maior riqueza de espécie por captura em CDC (Tabela I.2).

**Tabela I. 2.** Diversidade, dominância e equidade de espécies de Culicidae, capturados por armadilhas luminosa do tipo CDC, Shannon e EOAM na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, no período de junho de 2014 a junho de 2015.

Armadilhas	Diversidade*		Dominância**		Equidade***		Riqueza****		
	H'	Ds	d	ls	Eq <sub>J</sub>	E <sub>D</sub>	S <sub>Max</sub>	s <sup>2</sup>	S <sub>Obs</sub>
<b>EOAM</b>	1,7403	0,5618	0,6151	0,4382	1,5623	0,6063	13	0	13
<b>CDC</b>	3,4421	0,8673	0,2238	0,1327	2,2475	0,8934	51	0,75	34
<b>SH</b>	2,5422	0,7881	0,3203	0,2119	2,1112	0,8405	26,6667	16	1,1111

\* H' – Diversidade de Shannon-Wiener; Ds – Diversidade de Simpson; \*\* d – Dominância de Berger-Parker; ls – dominância de Simpson; \*\*\*Eq<sub>J</sub> – Equidade de Shannon-Wiener (Piellou); E<sub>D</sub> – Equidade de Simpson; \*\*\*\* Riqueza de espécies de Jackknife de 1ª ordem: S<sub>Max</sub> - Riqueza estimada; s<sup>2</sup> - variância; S<sub>Obs</sub> – riqueza observada.

Na comparação entre diversidades por tipo de armadilha, as amostragens que apresentam diferença significativa entre si ( $\alpha = 0.05$ ), demonstram que a diversidade são díspares e como isso há variação o que pode ser verificado não somente nos valores calculados de diversidade de Shannon-Wiener, mas também na riqueza de Jackknife de 1ª ordem, pois são índices proporcionais e correlatos (Tabela I.2).

Comparando os resultados obtidos nos seis pontos de coleta (REBIO 1 a 6) no ano 2014, constatou-se que o ponto REBIO-1 apresentou uma maior diversidade específica (Shannon-Wiener = 3,2061 e Simpson = 0,8626) e maior valor de equidade (Equidade de Shannon-Wiener = 2,6626 e Simpson = 0,9184). O índice de dominância mostrou que o ponto amostral REBIO-4, foi o de menor diversidade (Shannon-Wiener = 2,3869 e Simpson = 0,7571). Enquanto o ponto REBIO-6 apresentou o maior valor do índice de riqueza ( $S_{Max} = 45,83$ ;  $S^2 = 1,52$ ) e o menor índice foi observado em REBIO-1 ( $S_{Max} = 16$ ;  $S^2 = 0$ ) (Tabela I.3).

**Tabela I. 3.** Diversidade, dominância e equidade de espécies de Culicidae, em seis pontos de amostragem, capturas realizadas em 2014 e 2015 na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, Brasil.

Ponto	Ano	Diversidade*		Dominância**		Equidade***		Riqueza****		
		H'	Ds	d	ls	Eq <sub>J</sub>	E <sub>D</sub>	S <sub>Max</sub>	s <sup>2</sup>	S <sub>Obs</sub>
REBIO -1	2014	3.2061	0.8626	0.2495	0.1374	2.6626	0.9184	16.0000	0.0000	16
	2015	2.5726	0.7566	0.4182	0.2434	2.1365	0.8057	16.0000	0.0000	16
REBIO -2	2014	2.5804	0.7292	0.4649	0.2708	1.9516	0.7648	31.5000	0.7500	21
	2015	2.7879	0.7887	0.3565	0.2113	2.0768	0.8256	33.0000	0.7500	22
REBIO-3	2014	2.5467	0.7888	0.3481	0.2112	2.2862	0.8541	21.6667	1.1111	13
	2015	2.9867	0.8430	0.2358	0.1570	2.4804	0.8984	26.6667	1.1111	16
REBIO-4	2014	2.3869	0.7571	0.3172	0.2429	2.1427	0.8189	22.7500	1.3125	13
	2015	2.7050	0.8222	0.252	0.1778	2.3000	0.8792	26.2500	1.3125	15
REBIO-5	2014	2.8548	0.8183	0.3304	0.1817	2.4274	0.8741	27.0000	1.4400	15
	2015	2.7229	0.8098	0.2940	0.1902	2.3757	0.8712	25.2000	1.4400	14
REBIO-6	2014	2.7688	0.8155	0.2836	0.1845	1.9806	0.8493	45.8333	1.5278	25
	2015	3.0102	0.8262	0.3028	0.1738	2.2424	0.8651	40.3333	1.5278	22

Já no ano de 2015, entre os seis pontos de amostragem (REBIO 1 a 6), foi constatado que REBIO-6, localizado em uma área inundável apresentou maior diversidade, considerando as armadilhas utilizadas, com maior frequência de *Ma. titillans* e *Cq. venezuelensis* (Shannon-Wiener = 3,0102 e Simpson = 0,8262). Em contrapartida (REBIO-1) apresentou

maior dominância ( $d=0,4182$  e  $I_s= 0,2434$ ) (Tabela I.3). Na área de mata REBIO-2 que apresentava vegetação de bambual, as espécies que apresentaram maior frequência foram *Cx. pedroi* Sirivanakarn & Belkin, 1980 e *Cx. ribeirensis* Forattini & Sallum, 1985. A maior equidade esteve presente no ponto amostral REBIO-3, o que se desvia da lógica das proporcionalidades entre os índices de diversidade e equidade, mas foi observado que as diversidades apresentam valores muito próximos. Quanto à riqueza de espécies, verificou-se que a captura por armadilha de CDC resultou em maior diversidade de espécies (Tabela I.3).

Observou-se que a comparação entre os pontos de coleta e os períodos de amostragens que apresentam diferença significativa entre si ( $\alpha = 0.05$ ) demonstram que as diversidades são díspares e como isso há variação, o que pode ser verificado não somente nos valores calculados de diversidade de Shannon-Wiener, mas também na riqueza de Jackknife de 1ª ordem, pois são índices proporcionais e correlatos (Tabela I.4).

**Tabela I. 4.** Valores do teste t-student a 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ) das comparações entre as diversidades de Shannon-Wiener, em 11 meses de amostragem na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, Brasil.

Meses de amostragem											
	J	J	S	O	N	D	F	M	A	M	J
J	-	0,0422 <sup>n</sup> s	2,7252 *	3,4247 *	7,8835 *	2,3885 *	6,1202 *	1,7054 <sup>n</sup> s	2,4786 *	8,3598 *	2,8654 *
J	0,0422 <sup>n</sup> s	-	2,9093 *	3,6811 *	8,4878 *	2,5308 *	6,2596 *	1,7724 <sup>n</sup> s	2,5387 *	9,2033 *	3,0432 *
S	2,7252 *	2,9093 *	-	0,4889 <sup>n</sup> s	11,484 *	0,1169 <sup>n</sup> s	8,2086 *	4,8711 *	4,9157 *	12,444 *	6,3145 *
O	3,4247 *	3,6811 *	0,4889 <sup>n</sup> s	-	13,715 *	0,5672 <sup>n</sup> s	8,9091 *	5,9793 *	5,635* *	15,511 *	7,7849 *
N	7,8835 *	8,4878 *	11,484 *	13,715 *	-	9,9504 *	1,5574 <sup>n</sup> s	7,6374 *	3,6664 *	0,897 <sup>ns</sup> *	7,4091 *
D	2,3885 *	2,5308 *	0,1169 <sup>n</sup> s	0,5672 <sup>n</sup> s	9,9504 *	-	7,7225 *	4,2366 *	4,4905 *	10,463 *	5,4295 *
F	6,1202 *	6,2596 *	8,2086 *	8,9091 *	1,5574 <sup>n</sup> s	7,7225 *	-	5,38* *	3,7371 *	1,9313 <sup>n</sup> s	4,8833 *
M	1,7054 <sup>n</sup> s	1,7724 <sup>n</sup> s	4,8711 *	5,9793 *	7,6374 *	4,2366 *	5,38* *	-	1,2871 <sup>n</sup> s	8,6596 *	1,2899 <sup>n</sup> s
A	2,4786 *	2,5387 *	4,9157 *	5,635* *	3,6664 *	4,4905 *	3,7371 *	1,2871 <sup>n</sup> s	-	3,5803 *	0,4971 <sup>n</sup> s
M	8,3598 *	9,2033 *	12,444 *	15,511 *	0,897 <sup>ns</sup> *	10,463 *	1,9313 <sup>n</sup> s	8,6596 *	3,5803 *	-	9,1452 *
J	2,8654 *	3,0432 *	6,3145 *	7,7849 *	7,4091 *	5,4295 *	4,8833 *	1,2899 <sup>n</sup> s	0,4971 <sup>n</sup> s	9,1452 *	-

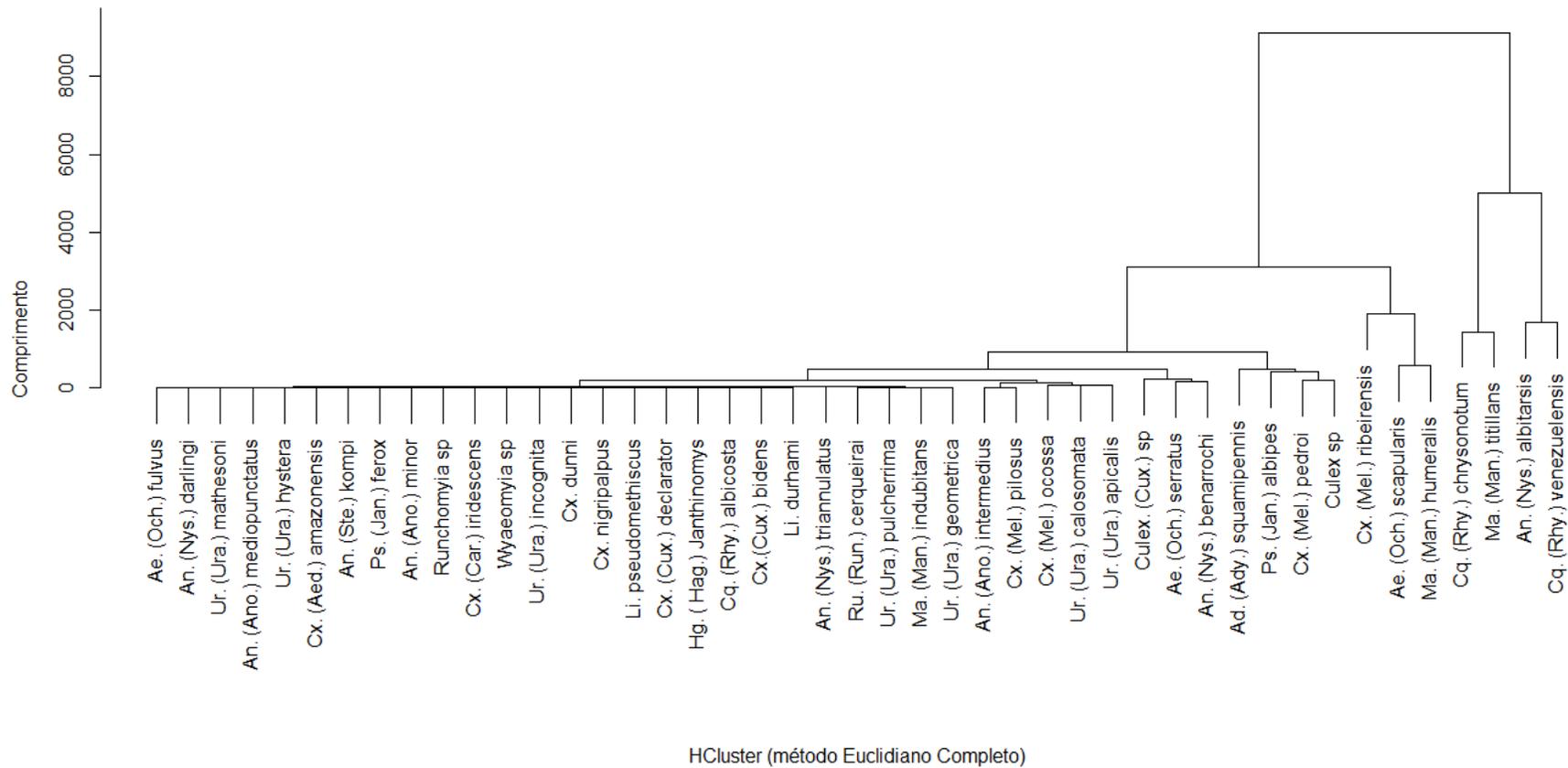
ns Não Há diferença significativa entre as diversidades, segundo o teste t para H' a 5% de probabilidade;

\*Há diferença significativa entre as diversidades, segundo o teste t para H' a 5% de probabilidade.

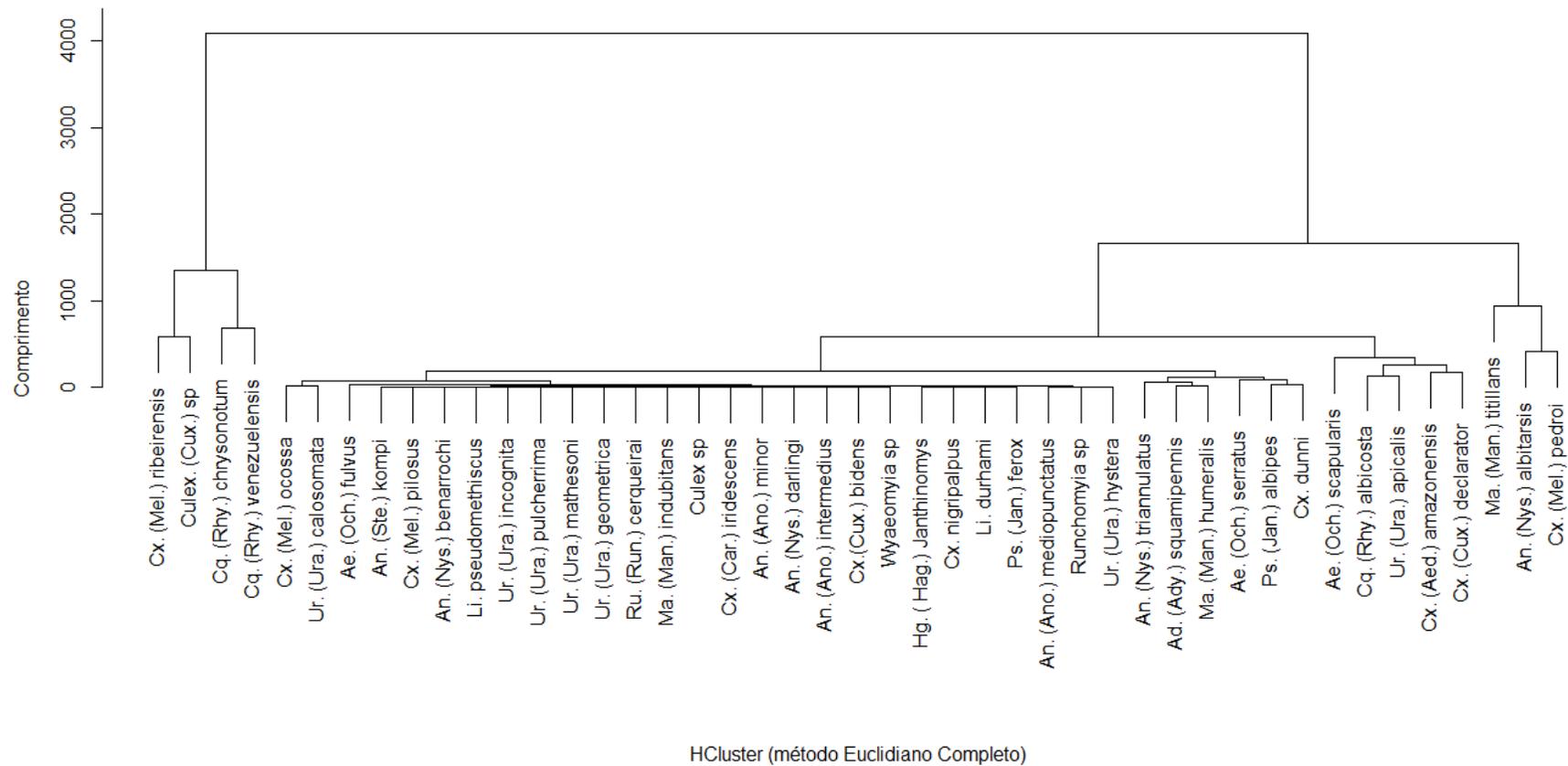
Na análise de Cluster por pontos amostrais durante os meses de capturas de 2014, observou-se que *Cx. ribeirensis* e *Cq. venezuelensis*, apresentaram maior distância em termos de números absolutos de ocorrência entre os pontos de amostragem, ou seja, pontos de coleta em 2014 (REBIO1 a 6) (Figura I.2).

Entretanto, durante os meses de capturas do ano 2015, *Cx. ribeirensis* e *Cq. venezuelensis*, apresentaram menor distância em termos de números absolutos de ocorrência entre os pontos de coletas estudados, ou seja, os pontos de coleta em 2014 (REBIO1 a 6) (Figura I.3).

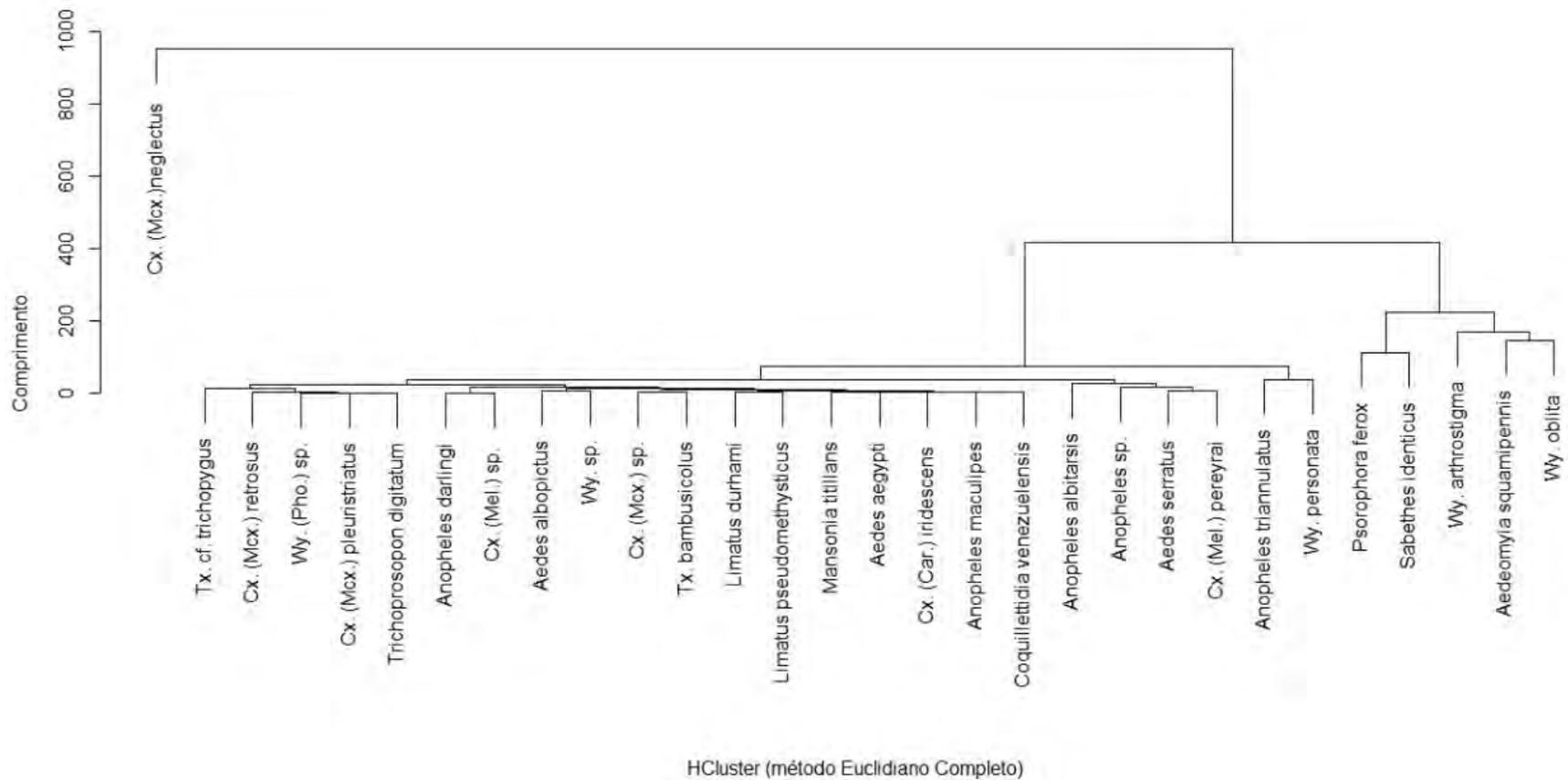
Com base na análise de cluster, pelo método Euclidiano completo foi possível observar que *Ps. ferox* e *Sabethes identicus* Dyar and Knab 1907 são as espécies que possuem maior aproximação quando considerada a ocorrência e flutuação durante os 11 meses de estudo. Esta aproximação através do método Euclidiano completo segue com as seguintes espécies: *Wy. arthrostigma* (Lutz, 1905), *Aedeomyia squamipennis* (Lynch Arribáizaga, 1878) e *Wy. oblita* (Lutz, 1904). A espécie que mais se distanciou das demais foi *Cx. neglectus* Lutz, 1904, coincidentemente a espécie com maior frequência (327 espécimes), nos 11 meses, e com presença regular, exceto em três meses (junho, julho e dezembro). As demais espécies agrupam-se e se aproximam segundo a análise de Cluster (Figura I.4).



**Figura I. 2.** Análise de cluster pelo método de Euclidiano completo, para a frequência absoluta das de espécies Culicidae, em seis pontos de amostragem, capturas realizadas em 2014 na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.



**Figura I. 3.** Análise de cluster pelo método de Euclidiano completo, para a frequência absoluta das espécies, Culicidae das espécies, em seis pontos de amostragem, capturas realizadas 2015 na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.



**Figura I. 4.** Análise de cluster pelo método de Euclidiano completo, para a frequência absoluta das espécies, em 11 meses de amostragem na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil.

Hipóteses sobre a distribuição dos espécimes com >10% de presença em cada ponto de amostragem sobre as características fisionômicas dos pontos de coleta e variáveis climáticas puderam ser elaboradas a partir dos resultados mostrados na tabela I.4. A densidade populacional dos culicídeos correlacionou-se positiva e principalmente com a temperatura. Considerando o total de espécimes capturados, houve correlação positiva apenas com a temperatura. Neste caso, sete espécies apresentaram correlação positiva com a temperatura: *Ad. squamipennis*, *Cq. chrysonotum*, *Cq. venezuelensis*, *Cx. ribeirensis*, *Ma. titillans* e *Ps. albipes* (Theobald, 1907), ou seja, com o aumento da temperatura, ocorreu aumento da densidade populacional. E ainda, *Ad. squamipennis* indicou correlação positiva com a pluviosidade (Tabela I.5).

**Tabela I. 5.** Valores do teste t-student a 5% de probabilidade ( $\alpha = 0,05$ ) das comparações entre as diversidades de Shannon-Wiener, em 11 meses de amostragem na área da Reserva Biológica Poço das Antas, município de Silva Jardim – Rio de Janeiro, Brasil.

Espécies	Coeficiente de correlação		
	T (°C)	U.R. (%)	P (mm)
<i>Ad. (Ady.) squamipennis</i> (Lynch Arribálzaga, 1878).	0.920**	-0.494	0.793**
<i>Ae. (Och.) scapularis</i> (Rondani, 1848)	0.082	-0.372	0.145
<i>An. (Nys.) albitarsis</i> Lynch Arribálzaga, 1878	0.115	-0.401	-0.037
<i>Cq. (Rhy.) chrysonotum</i> (Theobald, 1912)	0.800**	-0.381	0.264
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	0.673*	-0.028	0.409
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i> Sirivanakarn & Belkin, 1980	0.323	0.452	0.182
<i>Cx. (Mel.) ribeirensis</i> Forattini & Sallum, 1985	0.651*	0.070	0.292
<i>Culex</i> sp	0.607*	-0.373	0.431
<i>Culex. (Cux.)</i> sp	-0.191	0.485	-0.182
<i>Ma. (Man.) humeralis</i> (Dyar & Knab, 1916)	0.296	0.089	0.085
<i>Ma. (Man.) titillans</i> (Walker, 1848).	0.618*	-0.586	0.445
<i>Ps. (Jan.) albipes</i> (Theobald, 1907)	0.653*	0.253	0.316
<b>TOTAL</b>	0.664*	-0.070	0.327

## DISCUSSÃO

O conhecimento da biodiversidade dos culicídeos em bioma de Mata Atlântica é imperativo para avaliações das mudanças no padrão das atividades de suas populações, até então considerados como de hábito preferencialmente silvestre. Esses estudos tornam-se prioritários se considerarmos os recentes agravos à saúde das comunidades humanas em áreas

circunvizinhas aos ambientes florestais no estado do Rio de Janeiro, com destaque aos casos de Febre Amarela Silvestre (FAS) nos primeiros meses de 2017. Nesse particular, a avaliação das espécies de culicídeos na Reserva Biológica de Poço das Antas torna-se primordial, quer pela sua proximidade das localidades onde foram diagnosticados casos de FAS, aliados a inexistência de dados básicos sobre a presença de espécies vetoras de patógenos, como pelo fato de ser uma área ainda não estudada quanto à estrutura bioecológica das populações de culicídeos.

Devemos considerar ainda que, em condições naturais, mosquitos vetores distribuem-se em comunidades estáveis e equilibradas com as variáveis do ecossistema como um todo. Em diferentes estudos levados a efeito em áreas de preservação ambiental, como, por exemplo: no Parque Nacional do Iguaçu, ao sudoeste do estado do Paraná (GUIMARÃES et al., 2003), e no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (GUIMARÃES, A. E. & ARLÉ, 1984), Parque Nacional da Serra da Bocaina (GUIMARÃES, A.E., GENTILE, C., LOPES, C.M., SANT'ANNA, 2001) no estado do Rio de Janeiro, e no Parque Estadual da Serra do Mar (GUIMARÃES et al., 2000) no estado de São Paulo, foram relatados os riscos do surgimento de algumas doenças em regiões da Mata Atlântica em função da expansão industrial e turística. (AZEVEDO, 1997; GUIMARÃES et al., 2000), referiram a possibilidade da transmissão de malária em áreas de Mata Atlântica dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, respectivamente, em função de novos movimentos de ecologia humana. Assim, podemos imaginar que o surgimento de muitas epidemias esteja diretamente relacionado a problemas de ecologia humana causados, muitas vezes, pelo incentivo ao ecoturismo em áreas de preservação ambiental.

O número de espécies encontradas na Reserva Biológica de Poço das Antas (41 espécies, 12 gêneros) esteve próximo a estudos semelhantes realizados em fragmentos de Mata Atlântica em áreas sob preservação ambiental no estado do Rio de Janeiro (GUIMARÃES, A. E. & ARLÉ, 1984; GUIMARÃES, A.E., GENTILE, C., LOPES, C.M., SANT'ANNA, 2001; GUIMARÃES et al., 2000). Entretanto, nesses mesmos estudos, em comparação aos dados aqui relatados, a estrutura biocenótica das espécies tenha sido apenas moderadamente similar. ALENCAR et al., (2015); SILVA et al., (2014) encontraram cerca de 59 espécies de mosquitos de 14 gêneros em floresta Atlântica do município de Cachoeiras de Macacu, no Rio de Janeiro, e ALENCAR et al., (2011) encontraram 61 espécies de culicídeos na Reserva Biológica de Tinguá, estado do Rio de Janeiro. Enquanto na área de proteção

natural do Parque Municipal de Nova Iguaçu, localizado também no estado do Rio de Janeiro, foram reportadas 31 espécies de 12 gêneros (ALENCAR et al., 2015; CORREA et al., 2014). Segundo FIGUEIRÓ et al., (2012) ecossistemas que possuem diversas comunidades compostas de populações com o número de indivíduos relativamente similar são considerados comunidades com alta uniformidade e equitatividade.

O presente estudo mostrou diferenças significativas na riqueza de espécies entre os pontos de amostragem. O ponto amostral REBIO-1, caracterizado com uma cobertura vegetal ricamente composta por plantas endêmicas da região, mostrou uma maior diversidade no ano de 2014. Entretanto, o ponto REBIO-2 no ano de 2014 mostrou uma dominância de culicídeos, já que a dominância é maior onde a diversidade é menor. Segundo RICHARDSON (1999) os ecossistemas estáveis, tais como florestas, apresentam alta diversidade de espécies. A diversidade tende a ser reduzida em comunidades bióticas que sofrem estresse.

Nas observações realizadas por ALENCAR et al., (2012) utilizando as armadilhas luminosas de CDC e Shannon como métodos de amostragem, evidenciou-se que o padrão da riqueza das espécies de mosquitos dos diferentes pontos de capturas foi fortemente influenciado pela predominância de *Cq. fasciolata* (Lynch-Arribálzaga, 1891) sobre as demais espécies. Além disso, diferente do que ocorreu em Poço das Antas, onde a maior densidade populacional de mosquitos capturados foi na armadilha CDC, ALENCAR et al., (2012) encontraram maior número de espécimes coletados com armadilha luminosa do tipo Shannon.

No presente estudo, constatamos que *Cq. chrysonotum* e *Cq. venezuelensis* coletados com auxílio de armadilha luminosa de Shannon foram mais numerosas nas capturas, enquanto que para *Ma. titillans*, quase não houve diferença nas capturas realizadas em CDC e Shannon. Dentre os anofelinos, *An. albitarsis* foi a espécie de maior densidade populacional. Esta espécie de anofelino também é importante no cenário da epidemiologia da malária, normalmente aparecendo como vetor secundário, principalmente onde já ocorre a transmissão por *An. darlingi* (TEODORO et al., 1994; TADEI; THATCHER, 2000).

ARRUDA et al., (1986) evidenciaram em Belém, Estado do Pará, Brasil que algumas espécies foram encontradas infectadas, dentre elas, *An. albitarsis*. Cabe ressaltar que as maiores densidades populacionais registradas para as espécies *Cq. chrysonotum*, *Cq. venezuelensis*, *Ma. titillans* e *An. albitarsis* durante o período de amostragem podem ser justificadas pelo favorecimento na manutenção dos criadouros desses táxons, que são

coleções hídricas de certo porte, com vegetação emergente, constantes ao longo do ano, sem estação seca definida na região. Sabe-se ainda que, os representantes da tribo Mansonini ao ter sua proliferação favorecida pela oferta de criadouros, se mostram numerosos, sobrepondo-se às outras espécies (CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

As espécies de culicídeos foram influenciadas principalmente pelas variações de temperatura. Esta correlação positiva entre a temperatura e o número de espécimes capturados pode ser esclarecida pelo fato da atividade dos mosquitos ser influenciada dentro de certo limite, pelo aumento da temperatura, que facilita seu ciclo de desenvolvimento (MONTES, 2005). Dessa maneira, os espécimes ocorrem em maior número nos meses mais quentes do ano, neste estudo principalmente entre os meses de novembro e março. Não se observou correlação significativa entre a umidade relativa do ar e densidade de mosquitos, sendo tal fato consequência da umidade ter se mantido alta e constante durante o período das amostragens (entre 77 e 100%).

SILVA (2011) constatou, no Parque Nacional do Iguaçu, Paraná, que a fauna culicideana foi influenciada principalmente pela temperatura, assim como em Poço das Antas. Foi constatado ainda que, no Parque Estadual da Serra do Mar, houve correlação positiva com os três fatores abióticos analisados para as espécies *Cq. chrysonotum* e *Cq. venezuelensis*, enquanto nas nossas observações para essas mesmas espécies mostraram correlação positiva apenas para temperatura. Provavelmente os fatores climáticos pluviosidade e umidade relativa do ar parecem ter influência secundária na frequência desses táxons na Reserva Biológica de Poços das Antas, onde seus criadouros se mantiveram constantes ao longo deste período favorecendo a manutenção das espécies.

Com o presente estudo conclui-se que, apesar desta área de estudo ser reduzida a poucos fragmentos de Mata Atlântica, na sua maioria descontínuos, a fauna de mosquitos apresentou uma relativa riqueza com presença de algumas espécies de grande importância sob ponto vista epidemiológico. Devido ao encontro de vetores do vírus da febre amarela e casos confirmados da doença em primatas humanos na área de entorno da unidade de conservação exige uma vigilância entomológica ativa e constante.

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.; FERREIRA, Z. M.; LOPES, C. M.; SERRA-FREIRE, N. M.; MELLO, R. P. DE.; SILVA, J. DOS. S.; GUIMARÃES, A. É. Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 223–231, 2011.

ALENCAR J, MELLO VS, FREIRE NMS, SILVA JS, MORONE FC, GUIMARÃES, AE. Evaluation of Mosquito ( Diptera : Culicidae ) Species Richness using Two Sampling Methods in the Hydroelectric Reservoir of Simplício , Minas Gerais , Brazil Evaluation of Mosquito ( Diptera : Culicidae ) Species Richness Using Two Sampling Methods in th. **Zoological Science**, v. 24, n. 4, p. 218–222, 2012.

ALENCAR, J.; MELLO, C. F. DE.; GUIMARAES, A. E.; GIL-SANTANA, H. R.; SILVA, J. DOS. S.; SANTOS-MALLET, J. R. DOS.; GLEISER, R. M. Culicidae community composition and temporal dynamics in Guapiaçu ecological reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 1–16, 2015.

ALENCAR, J.; FERREIRA, Z. M.; LOPES, C. M.; SERRA-FREIRE, N. M.; MELLO, R. P. DE.; SILVA, J. DOS. S.; GUIMARÃES, A. É. Biodiversity and temporal distribution of immature Culicidae in the Atlantic forest, Rio de Janeiro State, Brazil. **Plos One**, v. 11, n. 7, p. 1–9, 2016.

ARRUDA, M. DE.; CARVALHO, M. B.; NUSSENZWEIG, R. S.; MARACIC, M.; FERREIRA, A. W.; COCHRANE, A. H. Potential vectors of malaria and their different susceptibility to plasmodium falciparum and plasmodium vivax in northern Brazil identified by immunoassay. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 35, n. 5, p. 873–881, 1986.

AZEVEDO, A. L. Aspectos da epidemiologia da malária e da biologia de Anopheles (Kerteszia) cruzii Dyar & Knab em vales montanhosos do sistema de Mata Atlântica. **Instituto Oswaldo Cruz**, 1997.

BERGER, W. H.; PARKER, F. L. Diversity of planktonic foraminifera in deep-sea sediments. *Science*, v. 168, n. 3937, p. 1345–1347, 1970.

BROWER, JAMES E. , ZAR, J. H. **Field and laboratory methods for general ecology**. 4. ed. Dudaque: Iowa: WCB Mc Graw Hill, 1997.

CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994.

CORREA, F. F.; GLEISER, R. M.; LEITE, P. J.; GIL-SANTANA, H. R.; MELLO, C. F. DE.; GREDILHA, R. Mosquito Communities in Nova Iguaçu Natural Park , Rio de. 2014.

DANTAS, M. E. **Mapa Geomorfológico do Estado do Rio de Janeiro**. Brasília, DF: CPRM- Serviço Geológico do Brasil, 2001.

FARAN & LINTHICUM. A handbook of the Amazonian species of Anopheles (Nyssorhynchus) (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics*, v. 13, n. 1, p. 001–081, 1981.

FIGUEIRÓ, R.; GIL-AZEVEDO, L. H.; MAIA-HERZOG, M.; MONTEIRO, R. F. Diversity and microdistribution of black fly ( Diptera : Simuliidae ) assemblages in the tropical savanna streams of the Brazilian cerrado. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 107, n. May, p. 362–369, 2012.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 2002.

FORATTINI, O. P.; MASSAD, E. Culicidae Vectors and Anthropic Changes in a Southern Brazil Natural Ecosystem. *Ecosystem Health*, v. 4, n. 1, p. 9–19, 1 mar. 1998.

GUIMARÃES, A. E. & ARLÉ, M. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I Distribuição Estacional. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 79, p. 309–323, 1984.

GUIMARÃES, A.E., GENTILE, C., LOPES, C.M., SANT'ANNA, A. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina. II - Frequência mensal e fatores

climáticos. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 4, p. 392–399, 2001.

GUIMARÃES, A. É.; DE MELLO, R. P.; LOPES, C. M.; GENTILE, C. Ecology of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I - Monthly Frequency and Climatic Factors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 1–2, p. 1–16, 2000.

GUIMARÃES, A. É.; LOPES, C. M.; MELLO, R. P. DE.; ALENCAR, J. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil: 1 Distribuição por hábitat. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 4, p. 1107–1116, 2003.

HARBACH, R. E. **Mosquito Taxonomic Inventory**. Disponível em: <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/valid-species-list>>. Acesso em: 14 jul. 2017.

IBDF/FBCN. Instituto Brasileiro de Defesa Florestal - Fundação Brasileira para Conservação da Natureza. Plano de Manejo da Reserva Biológica de Poço das Antas. **Ministério da Agricultura**, p. 95 (Documento Técnico N° 10), 1981.

LANE, J. **Neotropical Culicidae VOL II**. 1. ed. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1953.

KEESING, F.; HOLT, R. D.; OSTFELD, R. S. Effects of species diversity on disease risk. **Ecology Letters**, v. 9, n. 4, p. 485–498, 2006.

MONTES, J. Fauna de culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 4, p. 578–584, 2005.

REINERT, J. F. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (diptera) and notes on generic and subgeneric changes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 17, n. 1, p. 51–55, 2001.

RICHARDSON, B. A. The Bromeliad Microcosm and the Assessment of Faunal Diversity in a Neotropical Forest. **Biotropica**, v. 31, n. 2, p. 321–336, 1999.

RODRIGUES, W. C. **Diversidade de Espécies (versão 4.0)**. [Software]. Disponível em: <<http://dives.ebras.bio.br>>. Acesso em: 25 jun. 2017.

SILVA, J. DOS S. **Biodiversidade e Padrões alimentares de mosquitos (Diptera: Culicidae) em seis áreas brasileiras de preservação ambiental**. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011.

SILVA, J. DOS S; SOUTO COURI, M.; GIUPPONI, A. P. DE. L. & ALENCAR, J. Mosquito fauna of the Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil, collected under the influence of different color CDC light traps. **Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology**, v. 39, n. 2, p. 384–394, 2014.

TADEI, W. P.; THATCHER, B. D. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: Anopheles of the subgenus Nyssorhynchus. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, n. 2, p. 87–94, 2000.

TEODORO, U.; GUILHERME, A. L. F.; LOZOVEI, A. L.; FILHO, V. L. S.; FUKUSHIGUE, Y.; SPINOSA, R. P.; EUGÊNIA, M. E M. C.; BARBOSA, O. C.; LIMA, E. M. DE. Culicídeos do lago de Itaipu , no rio Paraná , Sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 29, n. 1, p. 6–14, 1994.

WILKERSON, R. C.; LINTON, Y. M.; FONSECA, D. M.; SCHULTZ, T. R.; PRICE, D. C. & STRICKMAN, D. A. Making mosquito taxonomy useful: A stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. **Plos One**, v. 10, n. 7, p. 1–26, 2015.

## CAPÍTULO II

### ANÁLISE COMPARATIVA DA ULTRAESTRUTURA DO OVO DE DIFERENTES POPULAÇÕES GEOGRÁFICAS DE *PSOROPHORA (JANTHINOSOMA) FEROX* (DIPTERA: CULICIDAE)

*Artigo aceito na Revista Brazilian Journal Biology*

#### Resumo

Caracterização da morfologia externa dos ovos do mosquito é importante, uma vez que facilita a identificação de materiais a partir de locais de reprodução e contribui para a compreensão da biologia das espécies e sistemática do grupo. O objetivo do presente estudo foi comparar os ovos de diferentes populações *Psorophora ferox* usando MEV. Os ovos foram obtidos a partir de fêmeas de *Ps. ferox* que foram coletadas na Reserva Biológica de Poço das Antas (Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil). A partir de cada fêmea, uma parte dos ovos (n = 5) foi criado para fins de identificação, e uma segunda parte (n = 10) foi examinado usando MEV para análise morfométrica. Foi então comparada a morfologia dos ovos de populações de *Ps. ferox* da Flórida (EUA) e Arena (Trinidad). A ornamentação do exocório das populações difere consideravelmente na morfologia dos tubérculos das células coriônicas, retículo coriônico externo, colar micropilar e micrópila.

**Palavras-chave:** Microscopia eletrônica de varredura, mosquitos, Aedini, morfometria, ovo.

## **Abstract**

Characterising the external morphology of mosquito eggs is important, since it facilitates the identification of material from breeding sites and contributes to the understanding of species biology and group systematics. Therefore, was to compare eggs from different *Psorophora ferox* populations using scanning electron microscopy (SEM). Eggs were obtained from adult female of *Ps. ferox* collected in the Poços das Antas Biological Reserve (Reserva Biológica de Poços das Antas, Rio de Janeiro, Brazil). From each female, one portion of eggs (n = 5) was reared for identification purposes, and the second portion (n = 10) was examined using SEM for morphometric analysis. The egg morphology was then compared to that of eggs from *Ps. ferox* populations in Florida (USA) and Arena (Trinidad). The exochorion ornamentation of the populations differs considerably in the morphology of the tubercles of the chorionic cells, external chorionic reticulum, micropylar collar, and micropyle.

**Keywords:** Scanning electron microscopy, mosquitoes, Aedini, morphometry, egg.

## INTRODUÇÃO

Em Culicidae, a tribo Aedini tem 1255 espécies, incluindo várias espécies de importância médica, sendo vetores de febre amarela, dengue e outras arboviroses. Essas espécies tiveram vários aspectos morfológicos estudados. No entanto, apenas 16 % das espécies tiveram seus ovos estudados, em sua maioria por microscopia óptica (REINERT, 2005).

Aproximadamente 30% das espécies de *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827 têm seus ovos descritos e ilustrados (PACHECO et al., 2012; REINERT, 2010). A caracterização dos ovos por MEV permite a identificação direta de ovos provenientes de criadouros, sem necessidade de promover o seu desenvolvimento até uma fase identificável, por criação em laboratório. Esta última costuma acarretar muito trabalho, custo e risco na elucidação taxonômica. Por outro lado, o uso da MEV em ovos, além de facilitar a identificação, quando um maior número de ovos tiver sido descritos, estudos de filogenia poderão ser incrementados com essa informação.

Como outros mosquitos da tribo Aedini, o gênero *Psorophora* preferem colocar seus ovos na terra úmida, muitas vezes à espera de alagamento, sendo chamado de "mosquitos de inundação". A maioria das espécies deste gênero é amplamente distribuída. *Psorophora* (*Janthinosoma*) *ferox* (Humboldt 1819) foi encontrada a partir da região de Ontário, no sul do Canadá ao norte da Argentina e no Uruguai, a leste da Cordilheira dos Andes, incluindo o leste, sudeste e centro do EUA, México, América Central, Antilhas, Colômbia e Venezuela (ORLANDIN et al., 2017). Esta espécie foi encontrada infectada por arbovírus Rocio (LOPES et al., 1981), West Nile (KULASEKERA et al., 2001), Encefalite Equina (CUPP et al., 2004) e Ilhéus (TURELL et al., 2005), e também demonstraram transmitir Rocio experimentalmente (MITCHELL; FORATTINI; MILLER, 1986).

A utilização da MEV, desde a década de 1960, tem contribuído para uma descrição mais detalhada da superfície de ovos, embora a microscopia óptica (MO) tem sido utilizada desde o início do século 20 e ainda é utilizada esporadicamente. Por exemplo (LINLEY; CHADEE, 1990) usaram MEV para determinar os padrões do exocório de diferentes populações de *Ps. ferox*. Nessa avaliação, foram observados que os ovos de *Ps. ferox* provenientes da Florida (EUA) são perceptivelmente diferentes das populações *Ps. ferox* de Trinidad, se diferenciando na quantidade e forma dos tubérculos coriônicos externos em cada célula coriônica.

Este presente estudo teve por objetivo comparar os ovos de *Ps. ferox* de diferentes regiões geográficas pela Microscopia Eletrônica de Varredura e realizar análise morfométrica das principais estruturas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os ovos utilizados neste estudo são provenientes de fêmeas capturadas na Reserva Biológica de Poço das Antas (REBIO-PA) que está localizada na parte central do município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A REBIO Poços das Antas situa-se geograficamente entre os paralelos 22° 30' e 22° 33' de latitude sul e os meridianos 42° 15' e 42°19' de longitude, com área aproximada de 5.226 ha e perímetro de 44 Km. Cinco fêmeas foram capturadas já ingurgitadas na natureza, usando tubo de sucção oral e transportadas no mesmo dia para o laboratório sendo mantidas por 4-5 dias em frascos plásticos de 30 ml contendo algodão e papel filtro úmido até postura de ovos. Foram obtidos 15 ovos, sendo 10 destes submetidos à análise morfométrica. A espécie foi identificada usando chaves dicotômicas de (FORATTINI, 2002).

Imediatamente após a oviposição, os ovos foram retirados do papel filtro com a utilização de um pincel. Os ovos foram fixados em glutaraldeído 2,5% e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%, ambos em tampão cacodilato de sódio 0.1M a pH 7,2. Após a lavagem no mesmo tampão, os ovos foram desidratados em séries crescentes de etanol e submetidos ao método de secagem pelo ponto crítico utilizando CO<sub>2</sub> superseco em aparelho Balzers (HAYAT, 1970). A seguir, os ovos foram montados em suportes metálicos, recobertos com ouro e observados ao microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 6390LV (JEOL, Ltd., Akishima, Tóquio, Japão) com uma ampliação de 200-5000 vezes. Os ovos foram também fotomicrografados nas posições dorsal e ventral afim de observarmos o exocório e a micrópila.

As medições foram realizadas diretamente sobre as imagens obtidas com a ajuda do software do sistema de análise Semafore, versão 3.1 (Insinooritoimisto J. Rimppi Oy, Ojakkala, Finland) e analisadas usando a interface de usuário SEM Control 8.24 (JEOL, Ltda), que foi acoplado ao microscópio. Os parâmetros medidos incluíram o comprimento total, largura total, diâmetro do tubérculo coriônico, micrópila e seus anexos. A terminologia

utilizada para descrever os ovos estava em conformidade com o proposto por HARBACH; KNIGHT (1980), e os gêneros foram abreviados como proposto por REINERT (2009).

## RESULTADOS

As medidas dos ovos de *Ps. ferox* obtidos aqui diferiram dos ovos de populações da Flórida e Trinidad, que foram descritos por LINLEY; CHADEE (1990). Os ovos de *Ps. ferox* apresentam uma coloração negra, são ovipostos isolados e aderidos ao substrato, ao serem observados através da MEV, apresentaram contorno elíptico, com uma média de 816.8 µm de comprimento e 205.6 µm de largura, O índice do ovo, ou seja, a razão entre o comprimento e a largura, foi calculado utilizando-se a largura da região central obtendo-se 3,97 (Figura II.1A).

O revestimento externo dos ovos apresenta o exocório com distribuição regular no formato dos retículos coriônicos, que apresentaram ornamentação hexagonal e algumas vezes pentagonal rodeados por pequenos tubérculos com comprimento (12,9 µm – 17,9 µm) e largura (5,14 µm – 6,22 µm); esses pequenos tubérculos se apresentam de forma irregular, com formato retangular, quadrado, arredondado e tubular e suas densidades variaram de 18 a 22 por célula (16,2±3,21; n=10). Além disso, o exocório também apresentou tubérculos grandes e cônicos no interior, (Comprimento 13-18 µm, largura 5.1-6.2 µm) em uma das extremidades das células coriônicas, caracterizando um padrão contrastante da espécie dentro do gênero *Psorophora* (Tabela II.1), distinguindo assim os ovos de *Ps. ferox* daqueles de seus congêneres.

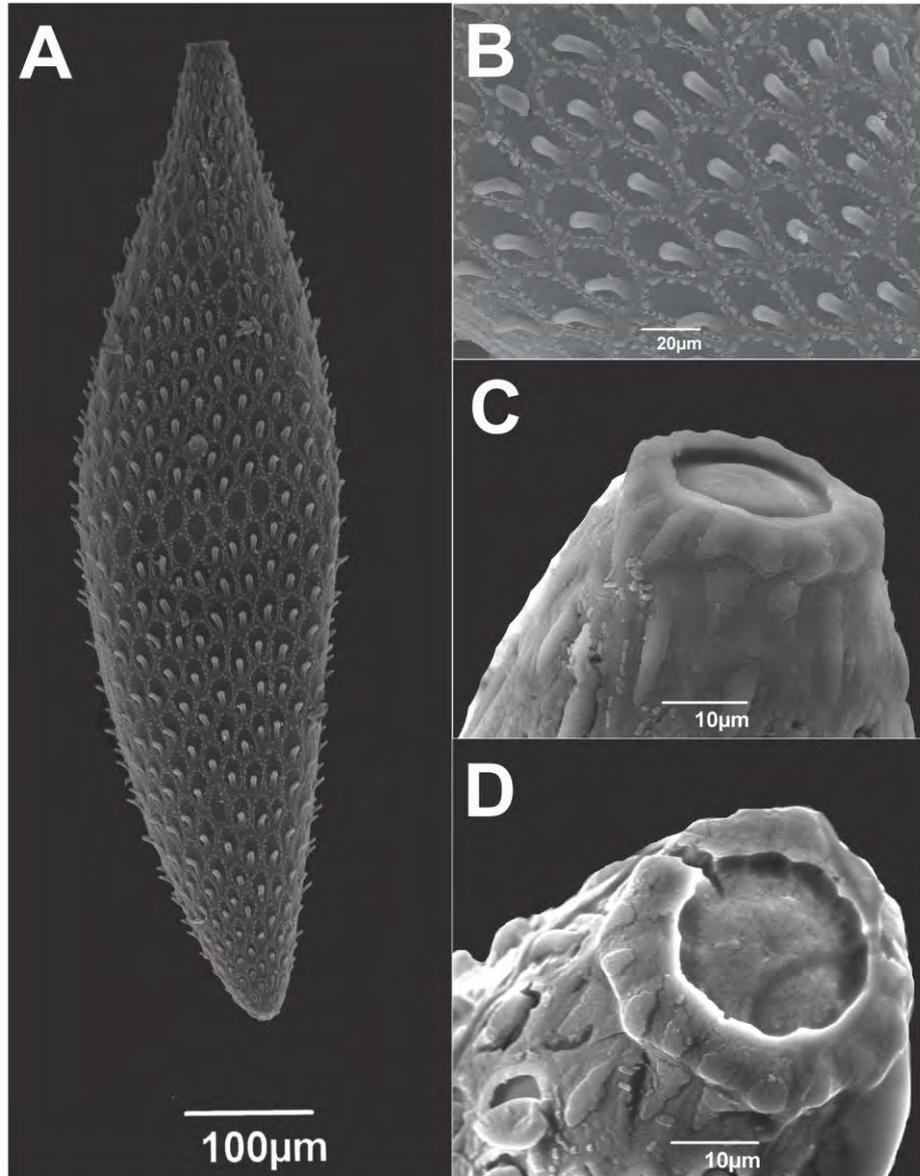
**Tabela II. 1.** Mensurações de comprimento e largura dorsoventral de ovos de *Psorophora ferox* em comparação com as três diferentes populações (n = 10).

Espécies	Comprimento $\mu\text{m}$		Largura $\mu\text{m}$		C/L índice do ovo		Tubérculos menores			Tubérculos maiores		
	Média/desvio padrão	Extensão	Média/desvio padrão	Extensão	Média/desvio padrão	Extensão	Total	Média/desvio padrão	Extensão	Total	Comprimento	Largura
<i>Ps ferox</i> (*Fl)	904.5 $\pm$ 13.7	845.5-963.6	250.2 $\pm$ 3.6	227.9 - 265.5	3.62 $\pm$ 0.03	3.44 - 3.75	36	32.9 $\pm$ 1.7	17-51	36	13-25	5.5-7
<i>Ps ferox</i> (*Tr.)	918.3 $\pm$ 1.9	911.0 - 927.7	316.7 $\pm$ 1.7	311.1 - 322.2	2.90 $\pm$ 0.02	2.83 - 3.04	28	27.5 $\pm$ 0.6	23-35	28	13-25	5.5-7
<i>Ps ferox</i> (Br)	816.8 $\pm$ 19.4	760.3 - 844.7	205.6 $\pm$ 5.5	190.3 - 216.7	3.97 $\pm$ 0.04	3.88 - 4.08	26	16.3 $\pm$ 0.6	10-22	26	13-18	5.1-6.2

\* Linley & Chadee (1990).

(Fl.): Vero Beach-Florida (EUA); (Tr.): Arena (Trinidad); (Br.) Reserva Biológica Poço das Antas-Rio de Janeiro (Brasil).

O aspecto dos tubérculos é poroso, não apresentando nenhum tipo de nódulo em sua superfície. A superfície do retículo coriônico na região anterior do ovo não apresenta rugosidades, observa-se o colar micropilar formado por um colar proeminente e contínuo, com aproximadamente 7,96  $\mu\text{m}$  de espessura no centro, o qual apresenta um disco micropilar bem evidente, com um diâmetro de 20,4  $\mu\text{m}$  (Figura II.1C). Pode ser observado no meio deste disco um orifício bem distinto, a micrópila, medindo 2,4  $\mu\text{m}$  (Figura II.1D).



**Figura II. 1.** A- Vista ventral (superior), da extremidade anterior do ovo de *Psorophora ferox*; B- Ornamentação típica do retículo coriônico exterior apresentando dois tipos de tubérculos; C- Aparato micropilar localizado na região anterior do ovo, formado por um colar com um frame bem evidenciado; D- Detalhe do disco micropilar e micrópila.

## DISCUSSÃO

As medidas dos ovos de *Ps. ferox* obtidos neste estudo diferiram dos ovos das populações da Flórida e Trinidad, que foram descritos por LINLEY; CHADEE (1990).

Em geral, os ovos da REBIO-PA foram menores, embora alguns estejam dentro da faixa de tamanho observada na Flórida. O tamanho e o número de tubérculos também diferiram entre os três locais (Tabela II.1), o que sugeriu diferenças intrapecíficas. A média do comprimento e largura dos ovos de *Ps. ferox* de Illinois (HORSFALL; MILES; SOKATCH, 1952) foram inferiores aos de ovos da Flórida, Trinidad e REBIO-PA, não foi possível comparar outras características uma vez que o estudo desses ovos foi baseado na MO. Comparando-se com os ovos de *Ps. varipes* (Coquillett 1904) (HORSFALL; MILES; SOKATCH, 1952) e *Ps. albigenu* (Lutz 1908) (PACHECO et al., 2012), os ovos de *Ps. ferox* apresentam um tubérculo mais em forma de cilindro em uma das extremidades e foram evidentemente mais longos, constituindo caracteres adicionais para a caracterização dos ovos.

Os aspectos das estruturas do exocório revestem-se de notável variedade, o que permite a possível realização de descrições utilizando da MEV, potencializando com isso sobremaneira os estudos morfológicos, anteriormente limitados à microscopia óptica. Graças a essa ferramenta, abriu-se a possibilidade de realização de estudos morfológicos detalhados com objetivos, entre outros, de contribuir para solucionar a identificação de representantes de Culicidae pertencentes a diferentes complexos (FORATTINI, 2002).

Mesmo utilizando microscopia óptica, HORSFALL; MILES; SOKATCH (1952) poderiam preparar uma chave para várias espécies norte-americanas de *Psorophora*, e a MEV poderia ser ainda mais útil para tal objetivo. No entanto, 17 de 52 espécies de *Ps.* tiveram seus ovos descritos, principalmente por MO (REINERT, 2005), e apenas 9 de 21 espécies de *Psorophora* já encontradas no Brasil tiveram seus ovos descritos: *Ps. cingulata* (Fabricius), *Ps. albigenu* e *Ps. ferox*. Esta escassez de estudos e a ampla distribuição da maioria das espécies enfatizam a necessidade de descrições de ovos de outras espécies. A presente comparação da descrição dos ovos das diferentes populações de *Ps. ferox* utilizando a MEV como ferramenta contribuiu para observar dissimilaridade na morfologia do exocório, e poderá colaborar no esclarecimento do status taxonômico e populacional de espécies de culicídeos.

## REFERÊNCIAS

CUPP, E. W., ZHANG, D., YUE, X., CUPP, M. S., GUYER, C., SPRENGER, T. R.; UNNASCH, T. R. Identification of reptilian and amphibian blood meals from mosquitoes in an eastern equine encephalomyelitis virus focus in central Alabama. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, n. 3, p. 272–276, 2004.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 2002.

HARBACH, R. E. & KNIGHT, K. L. **Taxonomists' glossary of mosquito anatomy**. Marlton: Plexus Publishing, 1980.

HAYAT, M. A. **Principles and Techniques of Electron Microscopy: Biological Applications**. 3. ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1970.

HORSFALL, W. R.; MILES, R. C.; SOKATCH, J. T. Eggs of floodwater mosquitoes. I. Species of *Psorophora* (Diptera: Culicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 45, n. 1, p. 618–624, 1952.

KULASEKERA, V. L., KRAMER, L., NASCI, R. S., MOSTASHARI, F., CHERRY, B., TROCK, S. C., & MILLER, J. R. West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 722–725, 2001.

LINLEY, J. R.; CHADEE, D. D. Fine structure of the eggs of *Psorophora columbiae*, *Ps. cingulata* and *Ps. ferox* (Diptera: Culicidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 92, n. 3, p. 497–511, 1990.

LOPES, O. S., SACCHETTA, L. A., FRANCO, D. B., JAKOB, W. L., & CALISHER, C. H. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819). **American journal of epidemiology**, v. 113, n. 2, p. 122–125, 1981.

MITCHELL, C. J.; FORATTINI, O. P.; MILLER, B. R. Vector competence experiments with Rocio virus and three mosquito species from the epidemic zone in Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 20, n. 3, p. 171–177, 1986.

ORLANDIN, E.; SANTOS, E. B.; PIOVESAN, M.; FAVRETTO, M. A.; SCHNEEBERGER, A. H.; SOUZA, V. O.; MULLER, G. A.; WAGNER, G. Mosquitoes (Diptera : Culicidae ) from crepuscular period in an Atlantic Forest area in Southern Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 77, n. 1, p. 60–67, 2017.

PACHECO, J. B., SANTOS-MALLET, J. R., GUIMARÃES, A. É., COSTA, J. M., & ALENCAR, J. Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae). **Micron**, v. 43, n. 2–3, p. 418–421, 2012.

REINERT, J. F. List of species described in the egg stage of tribe Aedini (Diptera: Culicidae) with their literature citations. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 21, n. 3, p. 252–262, 2005.

REINERT, J. F. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). **Journal of the European Mosquito Control Association**, v. 27, n. December, p. 68–76, 2009.

REINERT, J. F. Species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) with published illustrations and/or descriptions of eggs – Summary. **European Mosquito Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 182–186, 2010.

TURELL, M. J., O’GUINN, M. L., JONES, J. W., SARDELIS, M. R., DOHM, D. J., WATTS, D. M., & ROSSI, C. A. Isolation of viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in the Amazon Basin region of Peru. **Journal of medical entomology**, v. 42, n. October, p. 891–898, 2005.

## CAPÍTULO III

### ULTRAESTRUTURA E MORFOMETRIA DO OVO DE *PSOROPHORA ALBIPES*

*Artigo publicado na Revista Zootaxa*

#### **Resumo**

Os ovos de *Psorophora albipes* foram estudados com o uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV), e descritos com base em análise morfométrica das principais estruturas observadas. Utilizamos ovos de fêmeas capturadas na Reserva Biológica de Poço das Antas (REBIO-PA) que está localizada no município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os ovos têm um contorno elíptico com um comprimento médio de  $538,67 \pm 69,89 \mu\text{m}$  e largura de  $157,66 \pm 23,12 \mu\text{m}$  e índice médio de  $3,42 \pm 0,07 \mu\text{m}$ . O revestimento externo dos ovos é regular, com células coriônicas alongadas que variam em tamanho, com um comprimento médio de  $13,02 \mu\text{m}$  e largura média de  $6,47 \mu\text{m}$ . As células têm principalmente uma forma pentagonal, mas algumas têm uma forma elíptica. O disco micropilar tem um diâmetro médio de  $19,8 \mu\text{m}$ , apresenta pequenas irregularidades no contorno, escavações na borda com o centro levemente levantado e um micropólio com um diâmetro de  $2,36 \mu\text{m}$ . O conhecimento completo da morfologia do ovo das espécies através da SEM é útil para correlacionar sua estrutura fina com diferenças consistentes e não discerníveis observadas sob um microscópio estereoscópico e pode auxiliar na discriminação de espécies. O SEM permite a construção de chaves de identificação para ovos de mosquitos que devem ser úteis para estudos envolvendo ovos recuperados de ovitrampas ou amostras de detritos no solo.

**Palavras-Chave:** Aedini, ovo, mosquito, *Psorophora albipes*, microscopia eletrônica de varredura

## **Abstract**

The eggs of *Psorophora albipes* were studied using scanning electron microscopy (SEM) and described based on a morphometric analysis of the main structures observed. We used eggs from a female caught in the Poço das Antas Biological Reserve (REBIO-PA), located in the municipality of Silva Jardim, State of Rio de Janeiro, Brazil. The eggs have an elliptical outline with a mean length of  $538.67 \pm 69.89 \mu\text{m}$  and width of  $157.66 \pm 23.12 \mu\text{m}$  and a mean egg index of  $3.42 \pm 0.07 \mu\text{m}$ . The external coating of the eggs is regular, with elongated chorionic cells that vary in size, with a mean length of  $13.02 \mu\text{m}$  and mean width of  $6.47 \mu\text{m}$ . The cells mostly have a pentagonal shape, but some have an elliptical shape. The micropylar disc has a mean diameter of  $19.8 \mu\text{m}$ , it has small irregularities in its outline, excavations at the edge with the center slightly raised and a micropyle with a diameter of  $2.36 \mu\text{m}$ . Complete knowledge of the egg morphology of species through SEM is useful in correlating its fine structure with consistent non-discernible differences observed under a stereoscopic microscope, and can aid in species discrimination. SEM allows the construction of identification keys for mosquito eggs that should be useful for studies involving eggs recovered from ovitraps or debris/soil samples.

**Keywords:** Aedini, egg, mosquito, *Psorophora albipes*, scanning electron microscopy

## INTRODUÇÃO

O gênero *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827, atualmente está constituído de três subgêneros: *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827 com dez espécies; *Janthinosoma* Lynch-Arribálzaga, 1891 com 23 espécies; *Grabhamia* Theobald, 1903 com 15 espécies, e os representantes deste gênero são restrito ao Novo Mundo (FORATTINI, 2002). Os ovos passam por diapausa imediatamente precedente ao ato da eclosão. As fêmeas ovipõem em locais úmidos passíveis a inundações, tendo como característica a transitoriedade de criadouros e possuem atividade tanto diurna quanto noturna, são vorazes hematófagas e oportunistas. Quanto ao potencial epidemiológico, algumas espécies de *Psorophora* já foram encontradas naturalmente infectadas com arbovírus como Ilhéus, Mayaro, Encefalite Equina Oeste, Rocio, Encefalite Equina Venezuelana (ROSA-FREITAS et al., 1998). *Psorophora (Jan.) albipes* (Theobald)1907 tem sido encontrada naturalmente infectada com alguns arbovírus entre os quais, Encefalite Venezuelana, Guama, Ilheus, Kairi, Mayaro, Una e Wyeomyia (KARABATSOS, 1978). Esta espécie está geograficamente distribuída do México a Argentina (HARBACH, 2008).

Fêmeas de *Ps. (Jan.) amazonica* Cerqueira 1960 são morfologicamente semelhantes a *Ps. albipes*, a distinção baseia-se principalmente nas seguintes características: Probóscida curta, pedicelo antenal marron escuro, escamas laterais claras de tonalidade esbranquiçada nesta e escudo coberto de escamas claras e escuras naquela (CERQUEIRA, 1960).

A morfologia externa dos ovos das espécies de Culicidae tem sido reconhecida como capaz de fornecer caracteres importantes para taxonomia. GOELDI, 1905 iniciou esse estudo através da microscopia de luz. Somente em 1972 foi realizado por MATSUO & KUNO (1972) o primeiro estudo em ovos das espécies de Culicidae utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) na qual permite observar mais detalhes.

Segundo REINERT (2010), apenas 33,3% das 48 espécies de *Psorophora* tiveram seus ovos descritos e ilustrados. Autores como GOELDI (1905), HOWARD; DYAR; KNAB (1912) e MITCHELL (1907) contribuíram para as observações e ilustrações da aparência geral de alguns ovos do gênero *Psorophora* usando microscopia óptica. O primeiro trabalho de MEV para o gênero *Psorophora* foi realizado por BOSWORTH; MEOLA; OLSON (1983), que descreveu e ilustrou os ovos de *Ps. (Gra.) columbiae* (Dyar & Knab). PACHECO et al., (2012) ilustrou os ovos de *Ps. (Jan.) albigena* (Peryassú) 1908 e comparou essas medidas com outras sete espécies de *Psorophora*. No presente estudo os ovos de *Psorophora*

*albipes* são descritos pela primeira vez com o uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV), complementada pela análise morfométrica das principais estruturas observadas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os ovos utilizados neste estudo são provenientes de fêmeas capturadas na Reserva Biológica de Poço das Antas (REBIO-PA) que está localizada na parte central do município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A REBIO Poços das Antas situa-se geograficamente entre os paralelos 22° 30' e 22° 33' de latitude sul e os meridianos 42° 15' e 42° 19' de longitude W, com área aproximada de 5.226 ha e perímetro de 44 Km. No total, duas fêmeas de *Ps. albipes* foram capturadas já ingurgitadas na natureza, retidas em tubo de sucção manual (capturador de Castro) e logo depois isoladas individualmente em um tubo de vidro de fundo plano, com 25 mm de diâmetro e 50 mm de altura, contendo ao fundo uma porção de algodão umedecido com água, coberto com papel de filtro, com a função de servir como substrato para oviposição, enquanto a parte superior foi fechada com uma tela fina (BATES; ROCA-GARCIA, 1945).

No laboratório foi oferecida alimentação açucarada com auxílio de pedaço de algodão umedecido em solução de açúcar a 20% e posto sobre a tela que tampava o tubo de vidro, os dois exemplares foram mantidos em ambiente experimental controlado (Estufa com termoperíodo e fotoperíodo), regulado a temperatura de  $28^{\circ} \pm 1^{\circ}C$ , umidade relativa de 75 a 90%. A fim de verificar as possíveis posturas o recipiente era examinado diariamente. Foram obtidos 46 ovos de uma fêmea capturada naturalmente ingurgitada e dos quais 24 foram mensurados para realização do estudo.

### **Microscopia Eletrônica de varredura**

Imediatamente após a postura retiramos 46 ovos do papel filtro com auxílio de um pincel fino e fixamos em glutaraldeído a 2,5%. Dos 46 ovos, deixamos 22 deles permanecerem fixados em GA a fim de garantir novos estudos, enquanto que 24 foram pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%, ambos em tampão cacodilato de sódio 0.1M, pH 7,2. Após a lavagem no mesmo tampão, os ovos foram desidratados em séries crescentes de etanol a (70, 80, e 90%) cada concentração durante dez minutos. Finalmente os ovos foram desidratados por três vezes com 100% de etanol por 10 minutos cada vez. As amostras foram

submetidas ao método de secagem pelo ponto crítico, utilizando CO<sub>2</sub> superseco em aparelho Balzers (Tousimis Research Corporation Rockville, Maryland, USA. Em seguida, montamos os ovos em suportes de metal, os quais foram recobertos com ouro, observamos e fotografamos em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Akishima, Tokyo, Japan) com ampliações de 270 a 1.900 vezes dando ênfase na região anterior para ver detalhes do aparelho micropilar e revestimento coriônico. Os 24 ovos foram submetidos à análise morfométrica. As mensurações foram realizadas diretamente nas imagens obtidas, com o auxílio do sistema de gravação de imagens digitais Semafore lenta varredura, versão 3.1 © (Insinooritoi misto J. Rimppi Oy, Finlândia) e analisados utilizando um controle SEM versão User Interface 8,24 © (Jeol Technichs Ltd), acoplado ao microscópio.

As mensurações tiveram como parâmetros comprimento total, largura total, espessura do colar micropilar, tamanho da micrópila, espessura, circunferência e diâmetro das células coriônicas e o tamanho dos tubérculos, sendo citadas na tabela os valores máximos, mínimos, médias e desvio padrão (Tabela III.1).

**Tabela III. 1.** Dimensões dos ovos de espécimes de *Psorophora albipes* (n = 24). Medições em µm.

Ovo	Células coriônicas	Tubérculos circulares		Superfície dorsal tubérculos longos	Aparato micropilar			
		Maior	Menor		Colar	Disco	Orifício	
Comprimento	538,67 ± 69,89	13,02		8,70 ± 2,96				
Largura	157,66 ± 23,12	6,47	2,21	0,341	2,76 ± 0,76	1,83	19,8	2,36
Índice (C/L	3,42 ± 0.07							

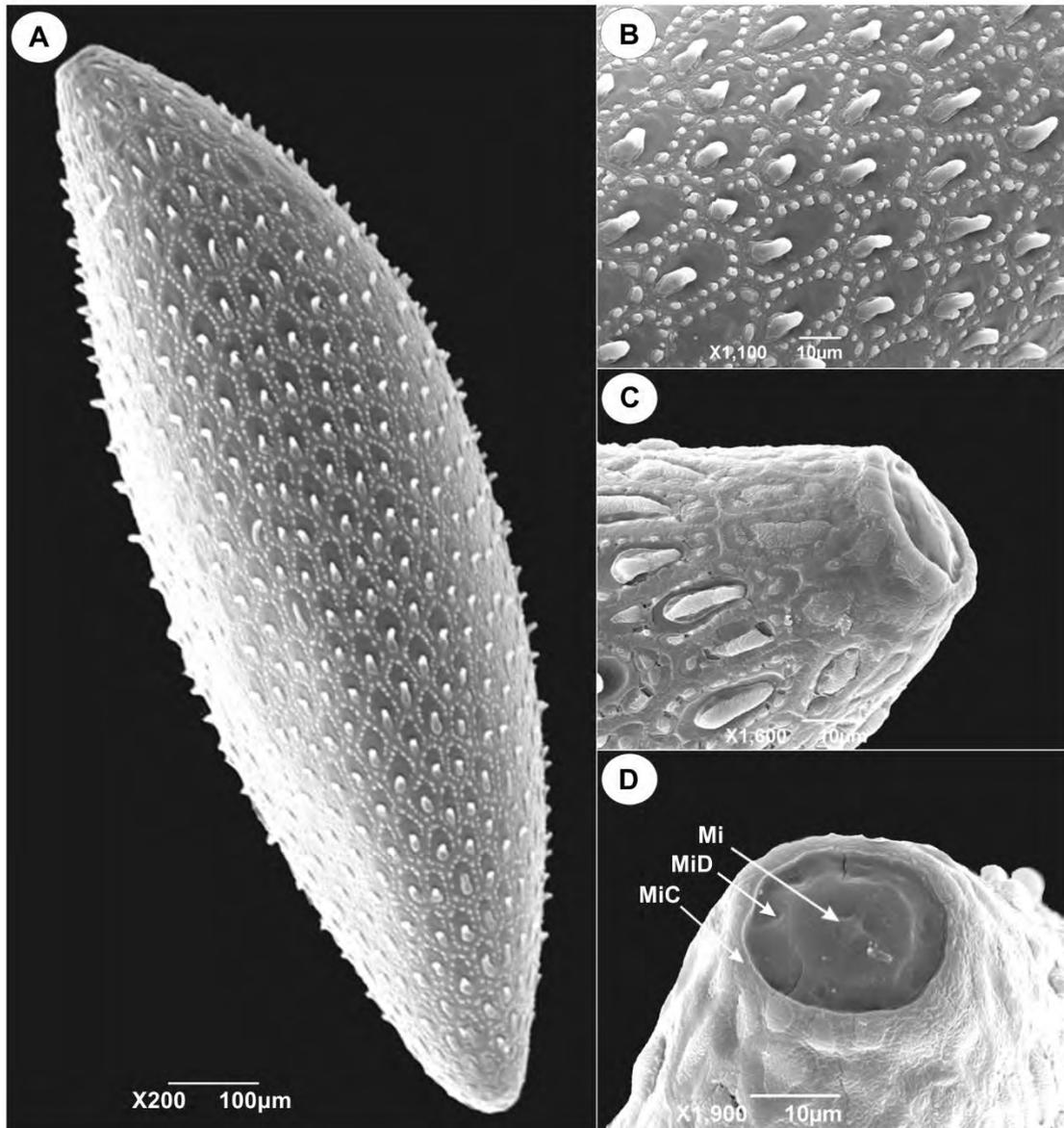
A identificação dos espécimes foram realizadas a partir da observação direta dos caracteres morfológicos usando um microscópio estereoscópico Zeiss (Stemi SV6) e consulta a descrição/diagnose respectiva da espécie, utilizando chaves dicotômicas elaboradas por CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994 e FORATTINI, 2002.

### Terminologia Morfológica do ovo

A terminologia para descrever os ovos segue HARBACH; KNIGHT, 1980. Os gêneros e subgêneros são abreviados como proposto por REINERT, 2009.

## RESULTADOS

Em linhas gerais os ovos apresentam forma fusiforme e coloração negra, medindo em média  $538,67 \pm 69,89 \mu\text{m}$  de comprimento e  $157,66 \pm 23,12 \mu\text{m}$  de largura, com índice (Proporção de comprimento para largura) de  $3,42 \pm 0,07 \mu\text{m}$  (Fig. 1A). O revestimento externo dos ovos se apresentam de forma regular sendo dotados de células coriônicas alongadas que variam em tamanhos obtendo uma média de  $13,02 \pm 2,27 \mu\text{m}$  de comprimento e  $6,47 \pm 0,90 \mu\text{m}$  de largura em sua maioria com padrão pentagonal, existindo algumas de um formato elíptico. Os pequenos tubérculos cônicos que formam a periferia das células possuem diâmetros que variam de 2,21 a 0,341  $\mu\text{m}$ , além de um tubérculo cilíndrico alongado, semi-ereto, ligeiramente dobrado, posicionado na região posterior da célula, com comprimento médio de  $8,70 \pm 2,96 \mu\text{m}$  e largura média de  $2,76 \pm 0,76 \mu\text{m}$  (Fig. 1B; Tabela 1). No entanto, nas regiões anterior e posterior do ovo, estes tubérculos estão totalmente reclinados em uma horizontal posição (Fig. 1C). O aparelho micropilar localizado na região anterior do ovo tem um colar evidente com uma superfície ligeiramente áspera e uma espessura de 1,84  $\mu\text{m}$ . O disco micropilar tem um diâmetro de aproximadamente 19,8  $\mu\text{m}$  e tem pequenas irregularidades e escavações na borda, com um centro levemente levantado. O orifício da micrópila de 2,36  $\mu\text{m}$  está parcialmente escondido por uma cobertura em forma de cruz (Fig. 1D).



**Figura III. 1.** Ovo de *Psorophora (Janthinosoma) albipes*. A. vista ventral (superior); B. ornamentação típica do retículo coriônico externo mostrando dois tipos de tubérculos; C. região anterior do ovo que mostra o aparelho micropilar, formado por um disco micropilar com uma estrutura bem evidenciada; D. Região anterior do ovo, com micrópila. Mi- micropila; CMi- colar micropilar; DMi- disco micropilar.

## DISCUSSÃO

A morfologia externa dos vários estágios dos mosquitos tem sido estudada e, pela facilidade de desenvolvimento e baixo custo, é uma forma preferencial de identificação destes insetos. No entanto, a morfologia externa dos ovos, apesar de estudada por microscopia de luz, só há algumas décadas (1968) passou a ser estudada por microscopia eletrônica de varredura, que permite observar mais detalhes. Imagens em microscopia eletrônica de varredura do exocório de ovos tem demonstrado ser um excelente parâmetro para comparação entre espécies. A ornamentação do exocório revela significativas diferenças, principalmente no que diz respeito à presença de tubérculos nas células coriônicas, permitindo, assim a distinção entre as espécies de Culicidae (MELLO et al., 2014; SANTOS-MALLET et al., 2010). Graças a essa ferramenta, abriu-se a possibilidade de realização de estudos morfológicos detalhados com objetivos, entre outros, de contribuir para solucionar a identificação de representantes das espécies de Culicidae pertencentes a diferentes complexos (FORATTINI, 2002).

O aspecto geral do exocório de *Ps. albipes* foi consistente com as descrições das espécies dos demais subgêneros de *Psorophora* apresentam células coriônicas alongadas e em sua maioria com padrão pentagonal ou hexagonal, algumas apresentam formato elíptico e a área periférica formada por tubérculos circulares, além de um tubérculo cilíndrico e alongado ligeiramente curvado ou reclinado.

Segundo LINLEY & CHADEE (1990) a aparência geral do ovo de *Ps. columbiae* é de forma longa e curva assemelhando ao fruto banana, apresentando uma curvatura dorsal maior que a ventral, células coriônicas alongadas com grande número de tubérculos periféricos e um único tubérculo grande, alongado, inclinado para o ângulo anterior. Face dorsal, lateral e ventral do cório tem superfícies muito semelhantes, e a estrutura da célula coriônica com formato mais hexagonal, ocasionalmente pentagonal e colar micropilar é muito distinto. Já em *Ps. albipes* o ovo na maioria células coriônicas apresentava o padrão pentagonal, existindo algumas de um formato elíptico. A observação sobre a presença de um tubérculo em forma de cone em uma extremidade da célula coriônica foi evidenciada por PACHECO et al., (2012) ao analisar os ovos de *Ps. albigena*, mas isso não foi relatado por HORSFALL; MILES; SOKATCH, (1952) ao analisar os ovos de *Ps. varipes* (Coquillett)1904, espécie considerada por muito tempo sinonímia de *Ps. albigena*. No presente estudo, foi possível observar esse tipo de tubérculo em *Ps. albipes*. Além dessa observação, é importante enfatizar que PACHECO

et al., (2012) relatam que o disco da micropila apresentava uma pequena formação denominada montículo da micropila. Já *Ps. albipes* difere consideravelmente na morfologia do disco micropilar se apresentando em formato de cruz.

Podemos ter detectado uma menor variabilidade intraespecífica da morfologia do ovo ou ultraestrutura do que está presente na população total porque todos os ovos examinados neste estudo foram obtidos de uma fêmea, devido a dificuldades na criação e obtenção de ovos em cativeiro. No entanto, uma única fêmea pode colocar ovos com diferentes características endocoriorônicas, como descrito por BOSWORTH; MEOLA; OLSON (1983) para *Ps. (Gra.)* Complexo *confinis*. Além disso, ovos de outras espécies, como *Aedes scapularis* (Rondani, 1848), não apresentaram diferenças morfológicas significativas entre populações que são geograficamente e bioclimaticamente distintas (SANTOS-MALLET et al., 2010), sugerindo que é uma característica estável conservada das espécies.

O conhecimento completo da morfologia do ovo de cada espécie através da MEV é útil na correlação de sua multiestrutura com diferenças consistentes e não discerníveis sob o microscópio estereoscópico. O conhecimento da morfologia do ovo de cada espécie permitirá a identificação das espécies, o que deve ser especialmente útil para estudos envolvendo ovos recuperados de ovitrampas ou detritos em amostras de solo

## REFERÊNCIAS

BATES, M.; ROCA-GARCIA, M. Laboratory Studies of the Saimiri-*Haemagogus* Cycle of Jungle Yellow Fever. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 25, n. 3, p. 203–216, 1945.

BOSWORTH, A. B.; MEOLA, S. M.; OLSON, J. K. The chorionic morphology of eggs of the *Psorophora confinnis* complex in the united states. I. taxonomic considerations. **Mosquito systematics**, v. 15, n. 4, 1983.

CERQUEIRA, N. L. Sobre uma n. sp. de *Janthinosoma* da Série Lutzi e a Descrição do Macho de *Psorophora* (J.) *circumflava* Cerqueira, 1943 (Diptera Culicidae). **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi - Nova Série**, v. 26, p. 1–10, 1960.

CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 2002.

GOELDI, E. A. Os mosquitos no Pará. Reunião de quatro trabalhos sobre os mosquitos indígenas, principalmente as espécies que molestam o homem. **Memórias do Museu Goeldi de História Natural e Ethnographia**, p. 244, 1905.

HARBACH, R. E. **Mosquito Taxonomic Inventory**. Disponível em: <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/valid-species-list>>. Acesso em: 14 jul. 2017.

HARBACH, R. E. & KNIGHT, K. L. **Taxonomists' glossary of mosquito anatomy**. Marlton: Plexus Publishing, 1980.

HORSFALL, W. R.; MILES, R. C.; SOKATCH, J. T. Eggs of floodwater mosquitoes. I. Species of *Psorophora* (Diptera: Culicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 45, n. 1, p. 618–624, 1952.

HOWARD, L. O.; DYAR, H. G.; KNAB, F. The mosquitoes of North and Central America and the West Indies. p. 451, 1912.

KARABATSOS, N. Supplement to International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 27, p. 372, 1978.

LINLEY, J. R.; CHADEE, D. D. Fine structure of the eggs of *Psorophora columbiae*, *Ps. cingulata* and *Ps. ferox* (Diptera: Culicidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 92, n. 3, p. 497–511, 1990.

MATSUO & KUNOU. The Scanning Electron Microscopy of Mosquitoes. **Journal Kyoto Prefectural University of Medicine**, v. 81, n. 7, p. 358–363, 1972.

MELLO, C. F. DE.; SANTOS-MALLET, J. R. DOS.; MORONE, F.; GUIMARÃES, A. É.; MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J. Ultrastructure of the egg of *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas, 1907) (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 39, n. 1, p. 219–221, 2014.

MITCHELL, E. G. **Mosquito life**. New York: Putnam Son, 1907.

PACHECO, J. B.; SANTOS-MALLET, J.R.; GUIMARÃES, A.É.; COSTA, J.M.; ALENCAR, J. Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae). **Micron**, v. 43, n. 2–3, p. 418–421, 2012.

REINERT, J. F. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). **Journal of the European Mosquito Control Association**, v. 27, n. December, p. 68–76, 2009.

REINERT, J. F. Species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) with published illustrations and/or descriptions of eggs – Summary. **European Mosquito Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 182–186, 2010.

ROSA-FREITAS, M. G.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; CARVALHO-PINTO, C. J. DE.; FLORES-MENDOZA, C.; SILVA-DO-NASCIMENTO, T. F. Anopheline Species Complexes in Brazil. Current Knowledge of Those Related to Malaria Transmission. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 5, p. 651–655, 1998.

SANTOS-MALLET, J. R. DOS.; GLEISER, M.; ALENCAR, J.; MARQUES, W. DE. A.; SOARES, J.; MARCONDES, C. B. Scanning Electron Microscopy of the Eggs of *Aedes scapularis* from Southern South America. **Journal of American Mosquito Control Association**, v. 26, n. 2, p. 205–209, 2010.

## CAPÍTULO IV

### VARIAÇÃO NO DNA MITOCONDRIAL CITOCROMO C OXIDASE I IDENTIFICA COM SUCESSO *CULEX (MELANOCONION) PEDROI* (DIPTERA: CULICIDAE) E *CULEX (MELANOCONION) RIBEIRENSIS* (DIPTERA: CULICIDAE)

*Artigo publicado na Revista Journal Medical Entomology*

#### Resumo

*Culex (Melanoconion) pedroi* Sirivanakarn e Belkin 1980 e *Culex (Melanoconion) ribeirensis* Forattini & Sallum 1985 são duas espécies morfológicamente muito semelhantes do subgrupo *Pedroi* dos mosquitos da seção *Spissipes* do subgênero *Melanoconion* do gênero *Culex* L. 1758. Realizamos uma análise da variação do DNA mitocondrial citocromo c oxidase I (COI) entre essas duas espécies. A recente observação da coexistência simpátrica em uma área florestada do Estado do Rio de Janeiro (Brasil) desencadeou a necessidade de validar essas duas espécies previamente identificadas com base na morfologia. Concluimos que o COI é uma ferramenta útil para a identificação de *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis*.

**Palavras-chave:** Citocromo C oxidase I, taxonomia, filogenia, *Culex pedroi*, *Culex ribeirensis*

## **Abstract**

*Culex (Melanoconion) pedroi* Sirivanakarn & Belkin 1980 and *Culex (Melanoconion) ribeirensis* Forattini & Sallum 1985 are two morphologically very similar species of the Pedroi subgroup of mosquitoes in the Spissipes section of the subgenus *Melanoconion* of the genus *Culex* L. 1758. We carried out an analysis of the mitochondrial cytochrome c oxidase I (COI) DNA variation between these two species. The recent observation of sympatric coexistence in a forested area of Rio de Janeiro State (Brazil) triggered the need to validate these two species previously identified based on morphology. We concluded that the COI is a useful tool for identification of *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis*.

**Key words:** Cytochrome C oxidase I, taxonomy, phylogeny, *Culex pedroi*, *Culex ribeirensis*

## INTRODUÇÃO

O subgênero *Melanoconion* Theobald do gênero *Culex* Linnaeus, 1758 é atualmente dividido em duas seções: *Melanoconion* e *Spissipes* (FORATTINI, 2002). A Seção *Spissipes* contém 23 espécies reconhecidas distribuídas em oito grupos e três subgrupos (NAVARRO; WEAVER, 2004; SALLUM; FORATTINI, 1996; SALLUM; HUTCHINGS; FERREIRA, 1997). As revisões taxonômicas tradicionais de *Cx. (Melanoconion)* (SALLUM; FORATTINI, 1996; SIRIVANAKARN, 1982) e a filogenia molecular da ITS-2 do DNA ribossomal (NAVARRO; WEAVER, 2004) têm considerada como válida o Subgrupo *Pedroi*. Este grupo é constituído por cinco espécies, que inclui *Cx. (Mel.) pedroi* Sirivanakarn & Belkin, 1980 e *Cx. (Mel.) ribeirensis* Forattini & Sallum, 1985, duas espécies muito semelhantes a nível morfológico. Os adultos podem ser separados por aspecto do tarso totalmente escuro em *Cx. ribeirensis*, contrastando com os anéis brancos nas juntas de tarsômeros 1-4 e o tarsômero 5 branco em *Cx. pedroi* (FORATTINI; SALLUM, 1985; SIRIVANAKARN; BELKIN, N., 1980). As características da genitália do macho são úteis para separar essas espécies. No subgênero *Melanoconion* esta premissa é particularmente relevante uma vez que muitas espécies podem ser identificadas apenas ou principalmente com base nas estruturas genitália do macho (PECOR et al., 1992). No entanto, não foram observadas características de diagnóstico no órgão genital do macho entre *Cx. ribeirensis* e *Cx. pedroi* (FORATTINI, 2002; SALLUM; FORATTINI, 1996).

*Culex pedroi* apresenta uma distribuição geográfica generalizada em 14 países americanos, incluindo o Brasil. No entanto, *Cx. ribeirensis* é mais restrito ao Sul do Brasil (FORATTINI; SALLUM, 1985). É importante ressaltar, que em vários pontos de amostragem foram coletadas ambas espécies.

A semelhança morfológica entre *Cx. ribeirensis* e *Cx. pedroi*, inclui a genitália do macho. O encontro da ocorrência simultânea de ambas espécies na área da Reserva Biológica de Poços das Antas, Rio de Janeiro, tornou possível avaliar a identidade taxonômica através do código de barras do ADN. Este método facilitou a identificação e descoberta de novas espécies entre muitos táxons de insetos e validar as espécies que foram previamente identificados com base na morfologia (HEBERT et al., 2003; HEBERT; RATNASINGHAM; DE WAARD, 2003).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados seis pontos de captura, (Pontos de coleta - REBIO 1, 2, 3, 4, 5 e 6), onde foram marcados com o auxílio de GPS. Os pontos de coletas foram selecionados com diferentes características visando estabelecer a influência exercida pela cobertura vegetal.

### Análise molecular

Extrações de ADN genômico de 10 espécimes de *Cx. pedroi* e 7 espécimes de *Cx. ribeirensis* foram realizadas com o kit ZR Tissue & Insect DNA MiniPrep (Zymo Research). Para os RCPs utilizamos os iniciadores LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') (FOLMER et al., 1994) e Taq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, EUA) foi realizado de acordo com PINTO et al., 2015. Os fragmentos amplificados foram purificados utilizando Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Life Sciences) e posteriormente sequenciados em ambos os sentidos com o Kit Big Dye Terminator em ABI3730 sequenciador automático (PE Applied Biosystems) na Fundação Oswaldo Cruz (PDTIS / FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil. As sequências foram alinhadas usando ClustalW (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994) e editado com Bioedit 7.2.5 (HALL, 1999). A sequência de consenso da 658 pb foi obtida para cada espécime (Números de adesões: KX379613-KX379629) A delimitação das espécies primárias foi estimada usando o software ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) (PUILLANDRE et al., 2012) pela identificação de um intervalo potencial de código de barras. Foram considerados os valores de divergência intraespecífica prévio entre 1% e 2,5% para evitar superestimar ou subestimar o número de espécies, similar ao método de PINTO et al., 2015.

Para construção de árvore filogenética, consideramos publicado anteriormente sequências de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e Boldsystems (<http://www.boldsystems.org/>) e realizamos uma Neighbor-joining análise (NJ) com o método de Kimura-dois parâmetros (K2P) (KIMURA, 1980) em MEGA 6.0 (TAMURA et al., 2013). Uma região de 651 pb a foi considerada nesta análise porque o comprimento variável de sequências depositadas em bases de dados públicas. As sequências de agregados para construção da árvore filogenética foram: ao subgênero *Melanoconion*, Seção *Melanoconion* (Sirivanakarn, 1983): *Cx. erraticus* (KM593032.1) *Cx. myotis* (KM593027.1), *Cx. serratimarge* (KF671018.1), *Cx. inhibitor* (JX259908.1), *Cx. conspirador* (KM593050.1 e

KM593053.1) e *Cx. educador* (KM593042.1); e *Spissipes* Secção: *Cx. taeniopus* (JX259916.1) (GIBSON et al., 2012; LINTON et al., 2013; ROZO-LOPEZ; MENGUAL, 2015).

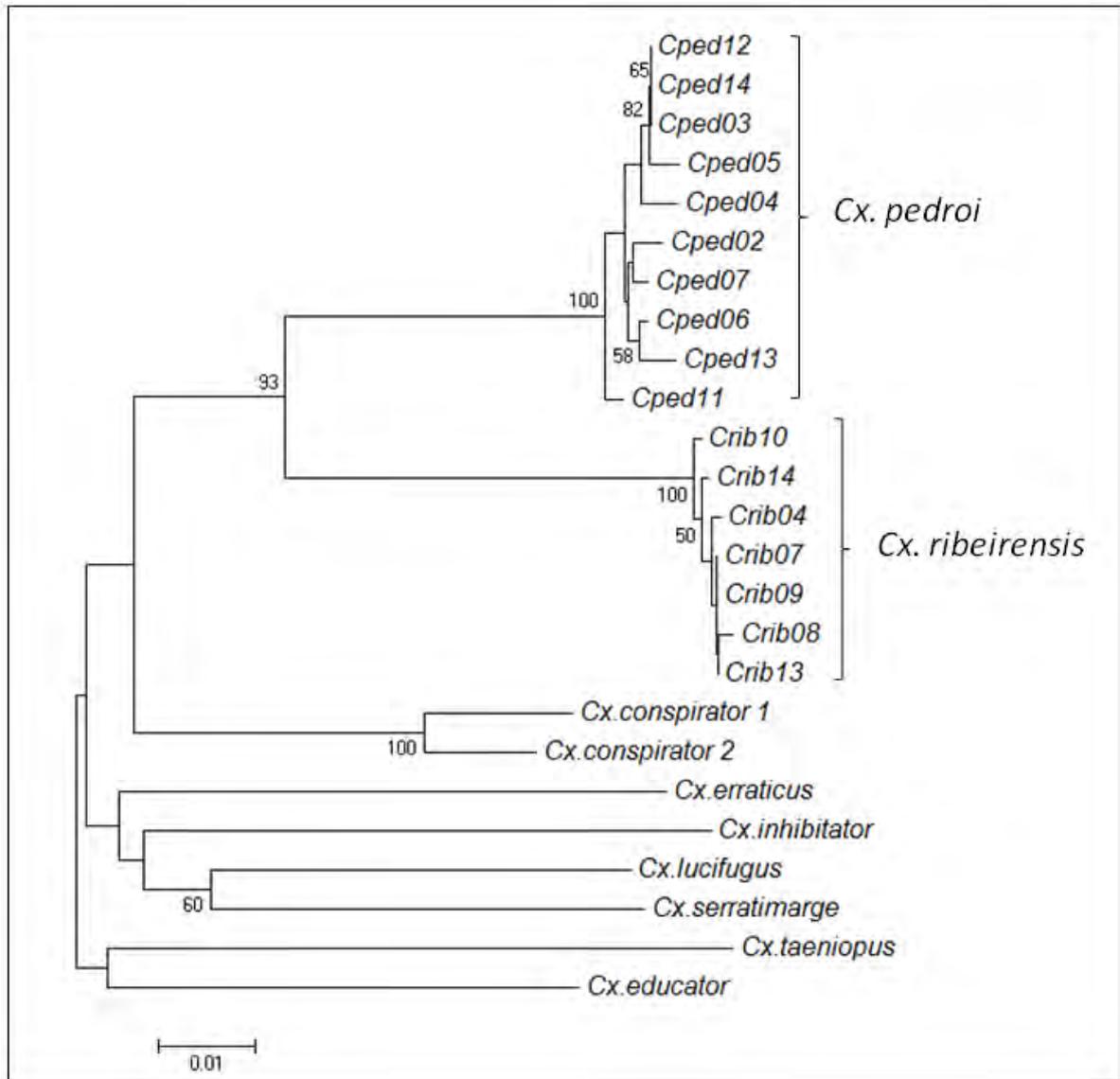
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fragmentos de 658 pb de ADN mitocondrial de Citocromo C Oxidase I (COI) obtido a partir de espécimes de *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis* foram sequenciadas com código de barras completo, com nenhuma evidência de inserções, deleções de terminação, indicando a ausência de pseudogenes nucleares do COI de origem mitocondrial. A média K2P de diversidade dentro das espécies foi de 0,4% e a divergência média entre espécies foi 10 vezes maior (4,2%). O alinhamento (Fig. IV.1) mostra 42 diferenças fixas de um total de sítios informativos 54 parcimônias .

	11122	2222223333	3333333333	4444444445	5555555555	5666
	123623301	2377890001	2234444577	0002567890	0122334445	6155
	1021473957	9818982476	5840367836	0131765400	8469252780	2928
<i>Cx. ribeirensis04</i>	ACGACACTCG	GTTTCTAAGA	TTACTCCGAT	ATACTATACC	GATTACTTCT	ATTC
<i>Cx. ribeirensis07</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis08</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis09</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C..T
<i>Cx. ribeirensis10</i>	...T.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis13</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis14</i>	..A.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. pedroi02</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTAGA	CCTTA.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi03</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi04</i>	TT.CTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTT.ATA	TA.T
<i>Cx. pedroi05</i>	TTACTTTCTA	.ACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi06</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGAG	CATTCTTA.A	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi07</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTAGA	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi11</i>	TTACTTTCTA	AAC.TCTGA.	CATTCTTA.A	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi12</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi13</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGAG	CATTCTTAGA	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi14</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT

**Figura IV. 1.** Alinhamento mostrando parcimônia de um fragmento de 658 pb do gene da Citocromo c oxidase subunidade I entre *Cx. (Mel.) pedroi* e *Cx. (Mel.) ribeirensis*.

O coeficiente de diferenciação estimada (0,910) e a descoberta dos dados de código de barras pelo método Gap de identificação indicam dois grupos bem definidos nos nossos dados na Figura IV.2. A árvore NJ construída utilizando as distâncias K2P é mostrado na Figura VI.2.



**Figura IV. 2.** Árvore filogenética COI (K2P). Somente valores de bootstrap superior a 50 são mostrados.

A relação filogenética observada entre *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis* apoia estudos morfológicos anteriores (revisado por HARBACH, 2011), e a correlação pode ser observada em espécies que pertencem a Seção Melanoconion. Apenas as sequências de *Cx. taeniopus* pertencente à Seção Spissipes, foi agrupada com sequências Seção Melanoconion.

A sistemática da Seção Spissipes foi avaliada usando ITS2 região nuclear ribossomal ADN (NAVARRO; WEAVER, 2004). Três espécies do subgrupo *Pedroi* (*Cx. pedroi*, *Cx. ribeirensis* e *Cx. adamesi*) foram observadas constituindo um grupo irmão monofilético. Resultado semelhante foi observado em nossa análise do ADN mitocondrial COI. A evidência filogenética usando ITS2 também sugere a existência de um *Cx. pedroi* que pode ocorrer na Venezuela e Peru (NAVARRO; WEAVER, 2004). Estudos adicionais usando ADN mitocondrial COI seriam interessantes, pois podem corroborar a nova forma sugerida detectada usando marcador nuclear.

Alguns estudos utilizando COI indicam limitação dessa abordagem em espécies estreitamente relacionadas de mosquitos por exemplo ASHFAQ et al., (2014); KUMAR et al., (2007); LAURITO et al., (2013); WANG et al., (2012). No entanto, nossos resultados com *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis* não parece ter sido exposto a essa limitação. Além disso, a correspondência entre espécies morfológicas e clusters do códigos de barras de ADN também foram determinadas em várias outras espécies de mosquitos (por exemplo ASHFAQ et al., (2014); CHAN et al., (2014); KUMAR et al., (2007); LINTON et al., (2013); ROZO-LOPEZ; MENGUAL, (2015); WANG et al., (2012) e em outros insetos como borboletas e mariposas (GUTIÉRREZ et al., (2014); HEBERT et al., (2004); PINTO et al., (2015). Portanto, o COI demonstra ser um marcador molecular útil para a identificação de *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis* e, assim sendo, apoia os sistemas de identificação baseado em estudos morfológicos de SALLUM; FORATTINI (1996).

## REFERÊNCIAS

ASHFAQ, M.; HEBERT, P. D. N.; MIRZA, J. H.; KHAN, A. M.; ZAFAR, Y.; MIRZA, M.; S. Analyzing mosquito (Diptera: Culicidae) diversity in Pakistan by DNA barcoding. **Plos One**, v. 9, n. 5, p. 1–12, 2014.

CHAN, A.; CHIANG, L-P.; HAPUARACHCHI, H. C.; TAN, C-H.; PANG, S-C.; LEE, R.; LEE, K-S.; NG, L-C.; LAM-PHUA, S-G. DNA barcoding: complementing morphological identification of mosquito species in Singapore. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 569, 2014.

FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R. VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 294–299, 1994.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 2002.

FORATTINI, O. P.; SALLUM, M. A. A new species of *Culex* (*Melanoconion*) from Southern Brazil (Diptera: Culicidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 19, n. 2, p. 171–182, 1985.

GIBSON, C. M.; KAO, R. H.; BLEVINS, K. K.; TRAVERS, P. D. Integrative taxonomy for continental-scale terrestrial insect observations. **Plos One**, v. 7, n. 5, p. 1–6, 2012.

GUTIÉRREZ, M. A. C.; VIVERO, R. J.; VÉLEZ, I. D.; PORTER, C. H.; URIBE, S. DNA barcoding for the identification of sand fly species (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Colombia. **Plos One**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2014.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **nucleic Acids Symposium Series journal page at PubMed Journals**, v. 41, p. 95–98, 1999.

HARBACH, R. E. Classification within the cosmopolitan genus *Culex* (Diptera: Culicidae): The foundation for molecular systematics and phylogenetic research. **Acta Tropica**, v. 120, n. 1–2, p. 1–14, 2011.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 270, p. 313–321, 2003.

HEBERT, P. D. N.; PENTON, E. H.; BURNS, J. M.; JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 41, p. 14812–14817, 2004.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DE WAARD, J. R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 270, n. Suppl\_1, p. 96–99, 2003.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 1330, p. 111–120, 1980.

KUMAR, N. P.; RAJAVEL, A. R.; NATARAJAN, R.; JAMBULINGAM, P. DNA barcodes can distinguish species of Indian mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 44, n. 1, p. 1–7, 2007.

LAURITO, M.; OLIVEIRA, OLIVEIRA, T. M. P.; ALMIRÓN, W. R.; SALLUM, M. A. M. COI barcode versus morphological identification of *Culex* (*Culex*) (Diptera: Culicidae) species: a case study using samples from Argentina and Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. Suppl. I, p. 110–122, 2013.

LINTON, Y. M.; PECOR, J. E.; PORTER, C. H.; MITCHELL, L. B.; GARZÓN-MORENO, A.; FOLEY, D. H.; PECOR, D. B.; WILKERSON, R. C. Mosquitoes of eastern Amazonian Ecuador: biodiversity, bionomics and barcodes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. Suppl. I, p. 100–109, 2013.

NAVARRO, J.-C.; WEAVER, S. C. Molecular phylogeny of the Vomerifer and Pedroi Groups in the Spissipes Section of the subgenus *Culex* (*Melanoconion*). **Journal of medical entomology**, v. 41, n. 4, p. 575–581, 2004.

PECOR, J. E.; MALLAMPALLI, V. L.; HARBACH, R. E.; PEYTON, E. L. Catalog and illustrated review of the subgenus *Melanoconion* of *Culex* (Diptera: Culicidae). **Review Literature And Arts Of The Americas**, v. 27, n. 2, p. 228, 1992.

PINTO, I. S.; CHAGAS, B. D.; RODRIGUES, A. A. F.; FERREIRA A. L.; REZENDE, H. R.; BRUNO, R. V.; FALQUETO, A.; ANDRADE-FILHO, J. D.; GALATI, E. A. B.; SHIMABUKURO, P. H. F.; BRAZIL, R. P.; PEIXOTO, A. A. DNA Barcoding of Neotropical Sand Flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): Species Identification and Discovery within Brazil. **Plos One**, p. 1–18, 2015.

PULLANDRE, N.; LAMBERT, A.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864–1877, 2012.

ROZO-LOPEZ, P.; MENGUAL, X. Mosquito species (Diptera, Culicidae) in three ecosystems from the Colombian Andes: Identification through DNA barcoding and adult morphology. **ZooKeys**, v. 2015, n. 513, p. 39–64, 2015.

SALLUM, M. A.; FORATTINI, O. P. Revision of the Spissipes Section of *Culex* (*Melanoconion*) (Diptera:Culicidae). **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 12, n. 3, p. 517–600, 1996.

SALLUM, M. A. M.; HUTCHINGS, R. S. G.; FERREIRA, R. L. M. *Culex gnomatos* a New Species of the Spissipes Section of *Culex (Melanoconion)* (Diptera: Culicidae) from the Amazon Region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 2, p. 215–219, 1997.

SIRINAKARN, S.; BELKIN, N., J. The identity of *Culex (Melanoconion) taeniopus* Dyar and Knab and related species with notes on the synonymy and description of a new species (Diptera, Culicidae). **Mosquito Systematics**, v. 12, n. 1, p. 7–23, 1980.

SIRIVANAKARN, S. A review of the systematic and a proposed scheme of internal classification of the New World subgenus *Melanoconion* of *Culex* (Diptera, Culicidae). **Mosquito Systematics**, v. 14, n. 4, p. 265–333, 1982.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994.

WANG, G.; LI, C.; GUO, X.; XING, D.; DONG, Y.; WANG, Z.; ZHANG, Y.; LIU, M.; ZHENG, Z.; ZHANG, H.; ZHU, X.; WU, Z.; ZHAO, T. Identifying the Main Mosquito Species in China Based on DNA Barcoding. **Plos One**, v. 7, n. 10, p. 1–11, 2012.

## CAPÍTULO V

### **DIVERSIDADE DE CULICIDAE DE HÁBITO ACRODENDRÓFILO, COM ÊNFASE EM *HAEMAGOGUS* (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES SILVESTRES DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA.**

*Artigo publicado na Revista Sociedade Brasileira de  
Medicina Tropical*

#### **Resumo**

As modificações ambientais causadas por atividades humanas levaram a mudanças nas populações de vetores de mosquitos, e as espécies silvestres adaptaram-se à criação em áreas urbanas. Os mosquitos foram coletados utilizando ovitrampas em três locais de amostragem na Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Coletamos 2.162 espécimes Culicidae. As espécies mais encontradas foram *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus*, ambos vetores do vírus da febre amarela silvestre. Existe potencial para a transmissão de arbovírus em e em torno dessas reservas naturais. Portanto, é necessário manter programas de vigilância entomológica na região.

**Palavras-chave:** *Haemagogus*, Febre amarela, Ovitrapas.

## **Abstrat**

Environmental modifications caused by human activities have led to changes in mosquito vector populations, and sylvatic species have adapted to breeding in urban areas. Mosquitoes were collected using ovitraps in three sampling sites in the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. We collected 2,162 Culicidae specimens. *Haemagogus janthinomys* and *Haemagogus leucocelaenus*, both sylvatic yellow fever virus vectors, were the most common species found. There is a potential for the transmission of arboviruses in and around these natural reserves. Therefore, it is necessary to maintain entomological surveillance programs in the region.

**Keywords:** *Haemagogus*, Yellow fever, Ovitrap.

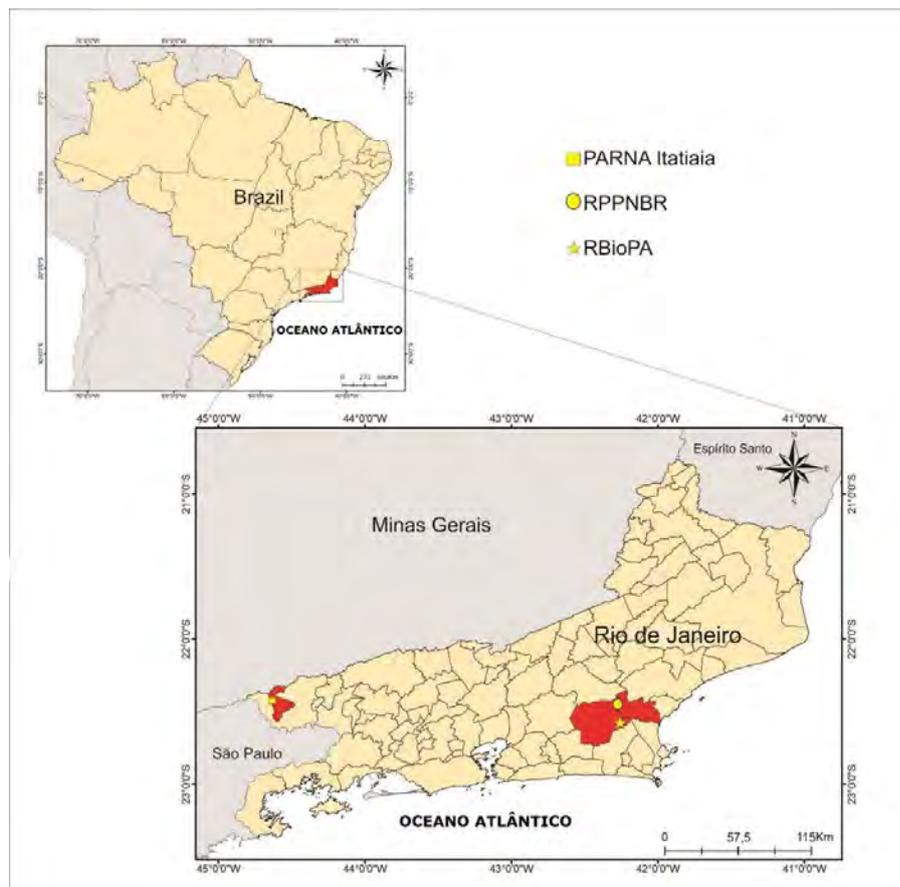
## INTRODUÇÃO

Compreender a biodiversidade das espécies de mosquitos na Mata Atlântica e sua resposta ao distúrbio humano e à recuperação florestal é importante para prever mudanças nas populações de mosquitos, especialmente aquelas comumente associadas aos habitats silvestres. Embora a fauna de mosquitos da Mata Atlântica seja diversificada e inclua vetores potenciais para o vírus da febre amarela, bem como outros arbovírus, do ponto de vista epidemiológico, os *Haemagogus* spp. e *Sabethes* spp. são os mais importantes na transmissão do vírus da febre amarela porque são os vetores primários nas áreas florestais das Américas (VASCONCELOS et al., 2003).

*Haemagogus* spp. ocorrem principalmente em florestas tropicais, com atividade diurna, nas horas mais quentes do dia e, embora acrodendrófilos, são capazes de realizar repasto sanguíneo ao nível do solo em áreas de desmatamento e algumas dessas espécies também apresentam tendência para a domiciliação (MARCONDES; ALENCAR, 2010). No entanto, tendências comportamentais podem variar de acordo com as regiões e as estações. Portanto, coletamos ovos de mosquito para avaliar a diversidade de Culicidae em áreas de preservação ambiental no Estado do Rio de Janeiro no Sudeste do Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os ovos de mosquito foram coletados no Parque Nacional de Itatiaia (PARNA-Itatiaia), na Reserva Biológica de Poço das Antas (RBioPA) e na Reserva Particular do Patrimônio Natural de Bom Retiro (RPPNBR) (Figura 1).



**Figura V. 1.** Localização da área de estudo no estado do Rio de Janeiro, Brazil. PARNA-Itatiaia: Parque Nacional de Itatiaia; RBioPA: Reserva Biológica de Poço das Antas; RPPNBR: Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro.

PARNA-Itatiaia, está situada a 176 km da cidade do Rio de Janeiro, foi a primeira reserva nacional no Brasil. Abrange uma área de 28.155ha e é fortemente afetada por atividades antropogênicas, incluindo desenvolvimento de moradias e colheita de palmeiras. A reserva inclui duas áreas ecologicamente distintas entre 400 e 2,791 m acima do nível do mar: uma com formações rochosas em altitudes mais elevadas e outra com numerosas cachoeiras e pequenos lagos. A precipitação no PARNA-Itatiaia é pesada e ocorre principalmente no verão. A precipitação anual é de 2,400 mm com a maior precipitação em janeiro (27 dias chuvosos com 388 mm de chuva em média). O local de coleta está localizado em 22°25'52.1 "S e 44°37'16.7" O.

A ReBioPA está situada no município de Silva Jardim e engloba uma área de 5.000ha. Constituída em 1914, a reserva inclui várias áreas que anteriormente eram pomares, casas ou pastagens; no entanto, a floresta se recuperou gradualmente e os fragmentos de floresta

primária com vegetação original podem ser encontrados nas planícies aluviais e nas áreas mais baixas da reserva. O clima é quente e úmido com a maior parte das chuvas ocorridas no verão (precipitação total = 1.000mm concentrada entre outubro e abril). As temperaturas máximas variam de 30 a 32 ° C e as temperaturas mínimas estão sempre acima de 18 ° C (IBDF/FBCN, 1981). O local de coleta está localizado em 22o33'11.4 "S e 42o17'49.8" O.

A RPPNBR está situada a 140km da Cidade do Rio de Janeiro. Abrange uma área de aproximadamente 556ha e está quase completamente coberta pela Mata Atlântica primária. A região é fortemente influenciada por radiação solar intensa e umidade do Oceano Atlântico produzindo um clima tropical úmido (TAKIZAWA, 1995). O local de coleta está localizado em 22°27'15.3 "S e 42°18'02.4" O.

A amostragem de ovos de mosquito foi realizada em 5 meses (dezembro de 2014 a abril de 2015) usando ovitrampas que consiste de um balde preto de 1L instalado 2-3m do solo e contendo água, serrapilheira e quatro paletas de madeira. Essas paletas foram coletadas duas vezes por mês e examinadas em laboratório. As paletas com ovos de mosquito foram imersas em bandejas transparentes preenchidas com água Milli-Q® e mantidas a  $28 \pm 1$  ° C. Os adultos emergentes foram identificados (FORATTINI, 2002), verificando descrições e redescrições originais quando necessário.

### **Análise dos dados**

Calculamos o índice de abundância de espécies para cada espécie e, em seguida, padronizamos isso em uma escala de zero a um índice padronizado de abundância de espécies (IPAE)], conforme descrito por Roberts & Hsi de acordo com (ROBERTS; HSI, 1979)(ROBERTS; HSI, 1979). Este índice é determinado pelo número de espécimes coletados e o padrão de distribuição em amostras. As categorias de dominância de espécies foram definidas como eudominantes (> 10%), dominantes (<10% e> 5%), subdominantes (<5% e> 2%), recessivas (<2% e> 1%) e raras (< 1%) (7).

Também comparamos a diversidade de mosquitos entre os locais com o Índice de Diversidade de Shannon-Wiener ( $H' = -\sum p_i \ln p_i$ , onde  $p_i$  é a abundância proporcional de espécies na coleção) utilizando o programa DivEs Species Diversity (W.C. Rodrigues, LIZARO Soft). Além disso, calculamos a riqueza de espécies (R) e o índice de similaridade de Sørensen (IS). Um  $IS > 0,50$  foi considerado significativo. Como as coletas não foram realizadas em abril de 2015 em PARNA-Itatiaia, todas as comparações foram restritas ao período de dezembro de 2014 a março de 2015.

## RESULTADOS

Entre dezembro de 2014 e abril de 2015, foram coletados 2.217 espécimes de seis espécies de mosquitos. Uma vez que as áreas estudadas estavam dentro da distribuição de *Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus capricornii* spp. e porque as fêmeas são muito difíceis de diferenciar (MARCONDES; ALENCAR, 2010) e o único macho foi coletado em RPPNBR, as fêmeas foram identificadas apenas como *Hg. capricornii* / *janthinomys*. Cinco espécimes só puderam ser identificados como *Wyeomyia* spp. (Tabela 1).

Além disso, *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon 1924) foi o mais abundante em todos os locais, seguido de *Hg. capricornii* / *janthinomys* em RPPNBR e RBioPA, e por *Limatus durhamii* Theobald, 1901, em PARNA-Itatiaia (Tabela 1). *H. leucocelaenus* foi o mais dominante em todas as áreas (Tabela 2). Não houve diferença significativa na diversidade entre as localidades (t-test,  $p > 0,05$ ), e todas as localidades apresentaram uma riqueza de espécies semelhantes (mais de 50% de similaridade).

Somente duas espécies foram observadas na RPPNBR, enquanto que no PARNA Itatiaia foram encontradas cinco espécies e a riqueza de espécies foi maior e RBioPA (Tabela 1). Na RPPNBR e RBioPA, a densidade populacional foi maior em dezembro e abril, respectivamente, e menor em janeiro. No PARNA-Itatiaia, a densidade populacional foi maior em março e menor em fevereiro.

No PARNA-Itatiaia, as espécies mais frequentemente observadas foram *Hg. leucocelaenus* (82,7% em março de 2015), *Li. durhamii* (11,7% em março de 2015) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (2,4% em agosto de 2014). As espécies com menor densidade foram *Hg. capricornii* / *janthinomys* (0,5% em janeiro de 2015), *Culex iridescens* (Lutz, 1905) (1,6%) e *Wyeomyia* sp. (0,9%). Na RPPNBR, coletamos apenas duas espécies de mosquitos: *H. leucocelaenus* (> 98,7% em dezembro de 2014) e *Hg. capricornii* / *janthinomys* (0,6% em fevereiro de 2015). Das três áreas estudadas, foi encontrado o maior índice de diversidade de Shannon ( $H' = 0,37$ ) para o local da amostra RBioPA e a maior riqueza de espécies ( $R = 5$ ) foi encontrada no site PARNA-Itatiaia. Além disso, no local de coleta PARNA-Itatiaia encontramos três espécies epidemiologicamente importantes: *Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys* e *Ae. albopictus* (Tabela V.1). As comparações da diversidade de espécies não confirmaram diferenças significativas entre as diferentes áreas de amostragem (RBioPA x RPPNBR t-test = 22.8851; RBioPA x PARNA-Itatiaia t = 7.0586; RPPNBR x PARNA Itatiaia t = 10.3493;  $p > 0,05$  para todos).

**Tabela V. 1.** Dimensões dos ovos de espécimes de *Psorophora albipes* (n = 24). Medições em µm.

	2014				2015				Total			
	Dez		Jan		Fev		Mar		Abr		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
<b>PARNA-Itatiaia</b>												
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	85	94	65	89	0	0	340	83	n.c	n.c	490	85
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	0	0	0	0	0	0	0	0	n.c	n.c	0	0
<i>Wyeomyia sp.</i>	5	5,6	0	0	0	0	0	0	n.c	n.c	5	0,9
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	0	0	3	4,1	0	0	0	0	n.c	n.c	3	1
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	0	0	5	6,8	0	0	62	15	n.c	n.c	67	12
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	0	0	0	0	0	0	9	2,2	n.c	n.c	9	1,6
Subtotal	90	100	73	100	0	0	411	100	n.c	n.c	574	100
<b>RPPNBR</b>												
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	345	100	0	0	320	97	45	100	40	100	750	99
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	0	0	0	0	8	2,4	0	0	0	0	8	1,1
<i>Haemagogus (Conopostegus) anthinomys</i> Dyar & Shannon, 1921 (Espécime macho)	0	0	0	0	2	0,6	0	0	0	0	2	0,3
Subtotal	345	100	0	0	330	100	45	100	40	100	760	100
<b>RBioPA</b>												
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	95	95	25	71	90	82	90	46	305	69	605	27
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	0	0	10	29	10	9,1	0	0	20	4,5	40	1,8
<i>Aedes (Protomacleayya) terreus</i>	5	5	0	0	0	0	0	0	5	1,1	10	0,5
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	0	0	0	0	10	9,1	95	49	105	24	210	9,5
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	0	0	0	0	0	0	9	4,6	9	2	18	0,8
Subtotal	100	100	35	100	110	100	194	100	444	100	833	38
Total	535	-	108	-	440	-	650	-	484	-	2217	100

**Parna-Itatiaia:** Parque Nacional de Itatiaia; **RBioPA:** Reserva Biológica de poço das Antas; **RPPNBR:** Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro; **nc:** Não coletado

Também usamos o índice de dominância para analisar a composição das espécies em cada uma das três áreas de estudo. Em RBioPA, *Hg. leucocelaenus* e *Hg. capricornii* / *janthinomys* eram eudominantes, *Ae. albopictus* e *Cx. iridescens* eram subdominantes, e *A. terreus* era recessivo. Em RPPNBR, *Hg. leucocelaenus* foi eudominante e *Hg. janthinomys* foi recessivo. Em PARNA-Itatiaia, *Hg. leucocelaenus* era eudominante e *L. durhamii* era dominante (Tabela V. 2).

**Tabela V. 2.** Índice Dominância e índice padronizado de abundância de espécies (IPAE) para espécies.

<b>PARNA-Itatiaia</b>					
	Número	D%	D%	IPAE	Classificação
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	490	85.4	Eudominante	0.75	1 <sup>st</sup>
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	3	0.5	Raro	0.083	4 <sup>th</sup>
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	9	1.6	Recessivo	0.083	4 <sup>th</sup>
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	67	11.7	Eudominante	0.333	2 <sup>nd</sup>
<i>Wyeomyia</i> sp.	5	0.9	Raro	0.167	3 <sup>rd</sup>
Total	574	100	-	-	-
Riqueza de espécies (E)	5	-	-	-	-
Shannon-Wiener Índice de diversidade (I')	0.2483	-	-	-	-
<b>RPPNBR</b>					
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	750	98.7	Eudominante	0.8	1 <sup>st</sup>
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	8	1.1	Recessivo	0.133	2 <sup>nd</sup>
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i> Dyar, 1921 (espécimes machos)	2	0.3	Raro	0.067	3 <sup>rd</sup>
Total	760	100	-	-	-
Riqueza de espécies (S)	2	-	-	-	-
Shannon-Wiener Índice de diversidade (I')	0.0304	-	-	-	-
<b>RBioPA</b>					
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	605	68.5	Eudominante	0.96	1 <sup>st</sup>
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	40	4.5	Subdominante	0.42	3 <sup>rd</sup>
<i>Aedes (Protomacleaya) terreus</i> (Walker, 1856)	10	1.1	Recessivo	0.2	4 <sup>th</sup>
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	210	23.8	Eudominante	0.5	2 <sup>nd</sup>
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	18	2	Subdominante	0.2	4 <sup>th</sup>
Total	883	100	-	-	-
Riqueza de espécies (E)	5	-	-	-	-
Shannon-Wiener Índice de diversidade (I')	0.3782	-	-	-	-

PARNA-Itatiaia: Parque Nacional Itatiaia; RBioPA: Reserva Biológica Poço das Antas; RPPNBR: Reserva Particular do Patrimônio Nacional Bom Retiro D%: Índice de dominância; IPAE: Índice padronizado de abundância de espécies de mosquitos em cada área de estudo no Rio de Janeiro, Brasil.

## DISCUSSÃO

As armadilhas de ovitrampas tem algumas limitações: elas não podem ser utilizadas para determinar densidades absolutas, as infusões não são padronizadas, impedindo a comparação entre diferentes períodos e armadilhas, e são intensivos esforços de trabalho (SILVER, 2008). Entretanto, é a única alternativa para amostragem de ovos em habitats naturais. Esta técnica deve ser complementada com capturas de adultos e pesquisa de imaturos. Além disso, as ovitrampas não capturam algumas espécies, como mosquitos de inundação (por exemplo, *Ae. scapularis* e *Ae. albifasciatus* Macquart, 1838); portanto, é ideal para utilizar vários métodos de amostragem (como armadilhas de luz), iscas e locais de reprodução. No entanto, as ovitrampas podem fornecer dados úteis sobre as flutuações sazonais, bem como preferências de altura e ambiente. Por exemplo, *Hg. janthinomys* mostra uma clara preferência por forragear nos níveis mais altos do dossel da floresta e coloca ovos em buracos de árvores situados em lugares muito altos e inalcançáveis (FORATTINI, 2002), indicando preferência pela colocação de ovos em armadilhas mais altas (ALENCAR et al., 2013).

Com exceção de *Ae. albopictus*, que se adaptou à criação em colmos de bambu e bromélias (entre outros lugares), todas as espécies são adaptadas a vários fitotelmas e algumas também foram encontradas em recipientes artificiais (MARQUES; SANTOS; FORATTINI, 2001). Por exemplo, *Culex (Carrollia)* spp. são comumente associados a várias fitotelmatas diferentes (HUTCHINGS et al., 2005), incluindo os entrenós de bambu, o fungo *Aquascypha hydrophora*, palmitos, Helicônias, Araceae e recipientes artificiais. No entanto, desde imaturo as formas de *Cx. (Car.) iridescens* são frequentemente encontradas em habitats naturais na Serra do Mar, São Paulo (ALENCAR et al., 2010), mas permanecem ausentes nas capturas de pouso em humanos na mesma área (GUIMARÃES et al., 2000), esses mosquitos parecem ter baixa antropologia e, portanto, pode não ser de importância médica.

Embora as áreas estudadas pareçam ser ecologicamente distintas, não eram significativamente diferentes em termos de diversidade de mosquitos. No entanto, o domínio das espécies foi diferente em todos os locais.

Entre as espécies já identificadas como vetores potenciais do vírus da febre amarela, *Hg. janthinomys* se destaca como o vetor principal nas Américas. Esta espécie parece ser altamente adaptada a diferentes biomas e diferentes condições abióticas (por exemplo, temperatura e umidade). O potencial de transmissão do vírus é reforçado pela distribuição

geográfica deste mosquito, que coincide com áreas conhecidas como endêmicas para a doença (MARCONDES; ALENCAR, 2010).

Foram coletadas três espécies de mosquitos epidemiologicamente importantes para a transmissão de arbovírus (*Hg. leucocelaenus*, *Hg. janthinomys* e *Ae. albopictus*) no presente estudo, no entanto, *Hg. leucocelaenus* foi a espécie predominante. Embora (ALENCAR et al., 2013) relataram que a oviposição por esta espécie atingiu o pico em abril em áreas sob a influência da barragem hidroelétrica do Simplício em Minas Gerais, Brasil, e que, por exemplo, variavam sazonalmente, nesta localidade *Hg. leucocelaenus* era a espécie predominante em todas as estações (ALENCAR et al., 2013). *Ae. albopictus* é um potencial vetor de vírus da dengue, vírus do *chikungunya*, vírus do Nilo Ocidental, vírus da febre amarela, vírus da encefalite equina oriental e vírus da encefalite equina ocidental e vários outros arbovírus (PAUPY et al., 2009).

De acordo com o índice de diversidade de Shannon, a RBioPA apresentou a maior diversidade de mosquitos; no entanto, a riqueza de espécies foi maior em PARNA-Itatiaia. A diversidade pode ser reduzida pelo estresse nas comunidades bióticas, de acordo com Richardson (RICHARDSON, 1999).

Embora não haja evidência de transmissão do vírus da febre amarela silvestre ativa nas reservas naturais estudadas aqui, a abundância do principal vetor para esta doença no Brasil exige uma vigilância ativa para o surgimento do vírus nas comunidades vizinhas.

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.; SERRA-FREIRE, N. M.; OLIVEIRA, R. F. N.; SILVA, J. D. S.; PACHECO, J. B.; & GUIMARÃES, A. É. Immature mosquitoes of Serra do Mar park, Sao Paulo State, Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 26, n. 3, p. 249–256, 2010.

ALENCAR, J.; MORONE, F.; MELLO, C. F.; DÉGALLIER, N.; LUCIO, P. S.; SERRA-FREIRE, N. M.; & GUIMARÃES, A. É. Flight Height Preference for Oviposition of Mosquito (Diptera: Culicidae) Vectors of Sylvatic Yellow Fever Virus Near the Hydroelectric Reservoir of Simplicio, Minas Gerais, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 4, p. 791–795, 2013.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 2. ed. São Paulo: EDUSP, 2002.

GUIMARÃES, A. É.; GENTILE, C.; LOPES, C. M. & MELLO, R. P. Ecology of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. III - Daily Biting Rhythms and Lunar Cycle Influence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 6, p. 753–760, 2000.

HUTCHINGS, R. S. G.; SALLUM, M. A. M.; FERREIRA, R. L. M. & HUTCHINGS, R. W. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 19, n. 4, p. 428–441, 2005.

IBDF/FBCN. Instituto Brasileiro de Defesa Florestal - Fundação Brasileira para Conservação da Natureza. Plano de Manejo da Reserva Biológica de Poço das Antas. **Ministério da Agricultura**, p. 95 (Documento Técnico N° 10), 1981.

MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera : Culicidae ) do Brasil. **Revista Biomédica**. v. 21, n. 3, p. 221–238, 2010.

MARQUES, G. R. A. M.; SANTOS, R. L. C. S.; FORATTINI, O. P. *Aedes albopictus* em bromélias de ambiente antrópico no Estado de São Paulo , Brasil \* *Aedes albopictus* in bromeliads of anthropic environment in São Paulo State , Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, p. 243–248, 2001.

PAUPY, C.; DELATTE, H.; BAGNY, L.; CORBEL, V.; & FONTENILLE, D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. **Microbes and Infection**, v. 11, n. 14–15, p. 1177–1185, 2009.

RICHARDSON, B. A. The Bromeliad Microcosm and the Assessment of Faunal Diversity in a Neotropical Forest. **Biotropica**, v. 31, n. 2, p. 321–336, 1999.

ROBERTS, D. R.; HSI, B. P. An Index of Species Abundance for Use with Mosquito Surveillance. **Environmental Entomology**, v. 8, n. 6, p. 1007–1013, 1979.

SILVER, J. B. **Mosquito ecology: field sampling methods**. 3. ed. New York: Springer, 2008.

TAKIZAWA, F. H. **Levantamento pedológico e zoneamento ambiental na Reserva Biológica de Poço das Antas**. Universidade de São Paulo, 1995.

VASCONCELOS, P. F. C.; Ssperb, A. F.; Monteiro, H. A. O.; TORRES, M. A. N.; SOUZA, M. R. S.; VASCONCELOS, H. B.; MARDINI, L. B. L. F. & RODRIGUES, S. G. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, v. 97, p. 60–62, 2003.

RICHARDSON BA. The bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a neotropical forest. **Biotropica** 1999; 31:321-336

## CONCLUSÕES GERAIS

Os temas e métodos apresentados nos capítulos dessa dissertação são abordagens de ecologia, morfologia e identidade taxonômica dos culicídeos em áreas do domínio de Mata Atlântica da Reserva Biológica de Poços das Antas, Estado do Rio de Janeiro

No capítulo I foram avaliadas a diversidade e a influência dos fatores climáticos sobre a distribuição das espécies de Culicidae na Reserva Biológica de Poço das Antas. Houve diferenças significativas na riqueza de espécies entre os pontos de amostragem, e tais espécies foram influenciadas principalmente pelas variações de temperatura. A contribuição do presente capítulo para a ecologia e importância epidemiológica dessas espécies foi a extrapolação quantitativa da distribuição espacial das mesmas e o estudo conclui que, apesar da ReBioPA ser uma área reduzida a poucos fragmentos de Mata Atlântica, na sua maioria descontínuos, a fauna de mosquitos apresenta uma relativa riqueza com presença de algumas espécies de grande importância sob ponto vista epidemiológico. Devido ao encontro de vetores do vírus da febre amarela e casos confirmados da doença em primatas humanos na área de entorno da unidade de conservação se exige uma vigilância entomológica ativa e constante.

Em termos gerais o capítulo II e III fornecem observações da ultraestrutura e morfometria dos ovos do grupo funcional de mosquitos de solo das espécies do gênero *Psorophora*. No capítulo II comparamos os ovos de fêmeas de *Ps. ferox* capturadas na Reserva Biológica de Poço das Antas com os ovos de fêmeas de *Ps. ferox* de duas diferentes regiões geográficas, fazendo uso da ferramenta de Microscopia Eletrônica de Varredura, e ainda realizamos análise morfométrica das principais estruturas. As medidas dos ovos de *Ps. ferox* obtidos neste estudo diferiram dos ovos das populações de *Ps. ferox* da Flórida e Trinidad, que foram descritos por LINLEY; CHADEE (1990), também houve diferenças consideráveis na morfologia dos tubérculos das células coriônicas, retículo coriônico externo, colar micropilar e micropila. O estudo contribuiu para observar dissimilaridade na morfologia do exocório, e poderá colaborar no esclarecimento do status taxonômico e populacional de espécies de culicídeos.

No capítulo III descrevemos pela primeira vez os ovos de *Ps. albipes* com o uso de microscopia eletrônica de varredura complementada pela análise morfométrica das principais estruturas observadas. O conhecimento completo da morfologia do ovo de cada espécie

através da MEV é útil na correlação de sua multiestrutura com diferenças consistentes e não discerníveis sob o microscópio estereoscópico. O conhecimento da morfologia do ovo de cada espécie permitirá a identificação das espécies, o que deve ser especialmente útil para estudos envolvendo ovos recuperados de ovitrampas ou detritos em amostras de solo.

No capítulo seguinte realizamos uma análise da variação do DNA mitocondrial citocromo c oxidase I (COI) entre vários espécimes de *Cx. pedroi* e *Cx. Ribeirensis*, ambos são espécies morfologicamente muito semelhantes do subgrupo *Pedroi* dos mosquitos da seção *Spissipes* do subgênero *Melanoconion* do gênero *Culex* e devido a observação da coexistência simpátrica desses espécimes na Reserva Biológica de Poços das Antas, foi desencadeada a necessidade de validá-las previamente identificadas com base na morfologia. Concluímos que o COI demonstra ser um marcador molecular útil para a identificação de *Cx. pedroi* e *Cx. ribeirensis* e, assim sendo, apoia os sistemas de identificação baseado em estudos morfológicos de SALLUM; FORATTINI (1996).

A Diversidade de Culicidae de hábito acrodendrófilo, com ênfase em *Haemagogus* (Diptera: Culicidae) vetores silvestres do vírus da Febre Amarela em três Reservas Naturais de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro foram estudadas no quinto e último capítulo. As espécies mais encontradas foram *Hg. janthinomys* e *Hg. leucocelaenus*, ambos vetores do vírus da febre amarela silvestre. Embora não haja evidência de transmissão do vírus ativo nas reservas estudadas, a abundância do principal vetor para esta doença no Brasil exige uma vigilância ativa para o surgimento do vírus nas comunidades vizinhas.

## ANEXOS

➤ **Manuscrito submetido a Revista PlosOne:**

Diversity and local distribution of culicidae in an ecological conservation area of Rio de Janeiro state, Brazil

Diversidade e distribuição local de Culicidae em Área de Preservação Ambiental do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

➤ **Artigo aceito na Revista Brazilian Journal Biology:**

Comparing the egg ultrastructure of three *Psorophora ferox* (Diptera: Culicidae) populations.

Análise comparativa da ultraestrutura do ovo de diferentes populações geográficas de *Psorophora (Janthinosoma) ferox* (Diptera: Culicidae).

➤ **Artigo publicado na Revista Zootaxa:**

Ultrastructure and Morphometry of the egg of *Psorophora albipes* (theobald) 1907 (Diptera: Culicidae).

Ultraestrutura e Morfometria do ovo de *Psorophora albipes* (Theobald) 1907 (Diptera: Culicidae).

➤ **Artigo publicado na Revista Journal Medical Entomology:**

Variation in Mitochondrial Cytochrome C Oxidase I DNA can successfully identify *Culex (Melanoconion) Pedroi* (Diptera: Culicidae) and *Culex (Melanoconion) ribeirensis* (Diptera: Culicidae)

Variação no DNA Mitochondrial Citocromo C Oxidase I Identifica com Sucesso *Culex (Melanoconion) pedroi* (Diptera: Culicidae) e *Culex (Melanoconion) ribeirensis* (Diptera: Culicidae).

➤ **Artigo publicado na Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical:**

Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil.

Diversidade de mosquitos vetores da Febre Amarela na Mata Atlântica do Rio de Janeiro, Brasil.

➤ **Currículo Lattes**

- ✓ **Cecilia Ferreira de Mello**
- ✓ **Jeronimo Augusto Fonseca Alencar**

1           DIVERSITY and LOCAL DISTRIBUTION of CULICIDAE IN an  
2    ECOLOGICAL CONSERVATION AREA of RIO DE JANEIRO STATE,  
3                                    BRAZIL

4  
5   Short running title: Diversity and local distribution of Culicidae

6  
7   Jeronimo Alencar<sup>1\*</sup>, Cecilia Ferreira de Mello<sup>1,2</sup>, William Costa Rodrigues<sup>3</sup>, Júlia dos  
8   Santos Silva<sup>4</sup>, Hécio Reinaldo Gil-Santana<sup>1</sup>, Anthony Érico Guimarães<sup>1</sup>

9  
10   1 Diptera Laboratory, Oswaldo Cruz Institute (FIOCRUZ), Av. Brazil 4365, ZIP:  
11   21040-360 Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil.

12   2 Postgraduate Program in Animal Biology, Institute of Biology, Federal Rural  
13   University of Rio de Janeiro, ZIP: 23890-000 Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil.

14   3 Entomologistas do Brasil, EntomoBrasilis, Vassouras, Rio de Janeiro, Brazil.

15   4 Interdisciplinary Laboratory of Diptera and Hemiptera Entomological Surveillance,  
16   Oswaldo Cruz Institute (FIOCRUZ), Av. Brazil 4365, ZIP: 21040-360 Manguinhos,  
17   Rio de Janeiro, Brazil

18  
19  
20   \*Corresponding authors

21   E-mail: jafalencar@gmail.com (JA)

## 29 **Abstract**

30 Knowledge of mosquito biodiversity in the Atlantic Forest is of great importance  
31 for evaluating changes in the pattern of mosquito population distributions, which were  
32 until now considered to be predominantly sylvatic. An observational study of the  
33 Culicidae fauna was conducted in a remnant area of the Atlantic Forest in the Poço das  
34 Antas Biological Reserve, Silva Jardim municipality, Rio de Janeiro, Brazil. The  
35 objective was to evaluate the diversity and influence of climatic factors on the  
36 distribution of species. Two types of light traps were used for capture: an automatic  
37 CDC trap with CO<sub>2</sub> and a Shannon trap. Members of the research team also performed  
38 captures with the aid of a manual suction tube when the specimens were attracted. In  
39 total, 15,700 specimens of Culicidae were collected from 2 subfamilies, 12 genera, and  
40 41 species. The most representative species were *Coquillettidia chrysonotum*, *Mansonia*  
41 *titillans*, and *Cq. venezuelensis*. Diversity indices show that the CDC light traps  
42 captured greater diversity (Shannon-Wiener and Simpson - 3.4421 and 0.8673), richness  
43 ( $S_{Max} - 51$ ;  $s^2 - 0.75$ ;  $S_{Obs} - 34$ ), and equity. In 2014, the sampling point with the highest  
44 concentration of endemic plants also had higher specific diversity (Shannon-Wiener and  
45 Simpson - 3.2061 and 0.8626). In 2015, a flooded area was most diverse (Shannon-  
46 Wiener - 3.0102 and Simpson - 0.8262), while dominance was highest in an area with  
47 the highest concentration of endemic plants. The abundance of Culicidae correlated  
48 positively with temperature. Considering the diversity of mosquito species in the Poço  
49 das Antas Biological Reserve and its potential role in the transmission of pathogens,  
50 combined with an intermittent flow of visitors in the area, it is important to maintain  
51 continuous entomological surveillance in the region.

52

53

## 54 **Introduction**

55           Although rainforests have the greatest diversity of vectors among all terrestrial  
56 biomes, it is probably due to this same reason that there is a great knowledge gap  
57 regarding rainforest fauna structure and composition. With high biodiversity and facing  
58 an alarming rate of destruction of habitats, with species extinct before they are  
59 discovered or described by science, Brazil urgently needs to expand fauna inventories,  
60 including entomofauna.

61           Mosquitoes are widely distributed across many habitats. Due to being involved  
62 in the transmission of many important pathogens, like arbovirus (causative agents of  
63 Zika, dengue, Chikungunya, yellow fever, etc.) and malaria parasites, mosquitoes have  
64 attracted great attention (Forattini 2002) since they currently cause serious public health  
65 problems in Brazil.

66           There are 3,549 recognized mosquito species distributed across approximately  
67 112 genera (Harbach 2008), or 42 genera according to the more traditional classification  
68 of Wilkerson *et al.* (2015). The neotropical region holds the highest level of endemism,  
69 as 27% of the species are restricted to this biogeographical region (Alencar *et al.* 2016).

70           Studies on the ecological aspects of Culicidae fauna were conducted in several  
71 areas of Brazilian states. In Rio de Janeiro State, for example, most of the studies on  
72 entomofauna, which are responsible for the transmission of most human diseases, were  
73 generally conducted based on the diagnosis of the diseases caused by pathogens  
74 transmitted by them.

75           Knowledge of the biodiversity in mosquito communities in the Atlantic Forest  
76 environment, whether during anthropic processes or in occasional periods of vegetation  
77 cover recovery, is of great importance for evaluating the possible changes in behavior

78 and adaptations in the patterns of distribution and activities of mosquito populations,  
79 which were until now considered to be exclusively sylvan. The diversity of  
80 communities could have significant effects on the risk of transmission of pathogens to  
81 humans by vector organisms (Keesing *et al.*, 2006). Nevertheless, host and vector  
82 variety could reduce the risk of exposure to pathogens by a "dilution effect," reducing  
83 the rate of encounters between vectors and hosts susceptible to blood ingestion and  
84 regulating vector populations, among other mechanisms. This connection between the  
85 diversity of species and the transmission of disease by vectors is based on  
86 zoonophylaxis, which means using sylvan animals that attract hematophagous insects  
87 and, therefore, distancing the insects from humans.

88 Knowledge of wild Culicidae fauna also serves as a basis for assessing the  
89 degree of changes occurring in a given region. Some species may act as bioindicators of  
90 these changes, either by an increase or decrease in their density, or even the possibility  
91 of their absence (Forattini & Massad, 1998).

92 Biological indicators are useful because of their specificity to certain types of  
93 impact, as many species are demonstrably sensitive to one type of pollutant or other  
94 influences and may be more tolerant of others. Thus, when proposing prolonged studies  
95 on the ecology of vector entomofauna, it is important to consider that the habitat does  
96 not change, so that the results are similar to the natural environment. The direct absence  
97 of the effects of anthropic action allows us to know the dynamics of sylvan populations  
98 and makes it possible to establish systematically the ecology of the group more  
99 comprehensively.

100 The present study aimed to evaluate the diversity and influence of climatic  
101 factors (temperature, relative humidity, and rainfall) on the distribution of Culicidae

102 species in Poço das Antas Biological Reserve, Silva Jardim municipality, in the state of  
103 Rio de Janeiro.

104

## 105 **Material and methods**

### 106 **Ethics statement**

107 The project in the area of the Poço das Antas Biological Reserve was authorized  
108 for collection, capture, and transport of zoological materials (No. 44333-1, dated  
109 06/05/2014, Ministry of Environment - MMA, Chico Mendes Institute of Biodiversity  
110 Conservation - ICMBio, Biodiversity Information and Authorization System – SISBIO).  
111 All members of the collection team were adequately vaccinated against yellow fever  
112 virus and were aware of the potential risks in the area under study.

### 113 **Study areas**

114 Collections were conducted at Poço das Antas Biological Reserve (22° 30' - 22°  
115 33' S, 42° 05' - 42° 19' W), located in the Silva Jardim municipality, in the state of Rio  
116 de Janeiro, within an area of about 5,000 ha (Fig 1). In the period before the creation of  
117 the reserve, the region housed several cattle ranches, in which there were some  
118 subsistence crops, orchards, pastures, and forest remnants. The vegetal cover of the  
119 reserve is currently pioneer formation areas with fluvial influences, anthropic fields,  
120 alluvial capoeira, submontane capoeira, alluvial forests, and submontane forests (IBDF /  
121 FBCN, 1981). The forest remnants are a testimony to the forests that originally covered  
122 the alluvial plains and hills of the coastal plain of Rio de Janeiro. The climate of the  
123 region is hot and humid with a rainy season in the summer, with no pronounced winter,  
124 and the temperature is high during most of the year. The average maximum temperature  
125 ranges from 30°C to 32°C, and the minimum temperatures does not fall below 18°C. The

126 average annual precipitation is 1,000 mm and is concentrated in the months of October  
127 to April, while the least rainy months are July and August (IBDF / FBCN, 1981).

128

129 **Fig 1. Location of study area and sampling sites in the Poço das Antas Biological**  
130 **Reserve, Rio de Janeiro, Brazil.**

131

132 Six sampling points (named as collecting sites REBIO 1, 2, 3, 4, 5, and 6) were  
133 selected, aiming to establish the influences exerted by the vegetation cover and variation  
134 across different biotopes. All were located in a massif set of alkaline rocks generated in  
135 a period of volcanic activity between the late Cretaceous and the beginning of the  
136 Tertiary, due to the opening of the Atlantic Ocean (Dantas, 2001).

137 REBIO 1: Located about 900 meters from the entrance of the biological reserve,  
138 with vegetation cover richly composed of plants endemic to the region; REBIO 2:  
139 medium-sized vegetation, predominantly bamboo monoculture; REBIO 3: riparian  
140 forest located on the banks of a stream, often flooding during the rainy season; REBIO  
141 4: vegetation in an advanced stage of regeneration, in an area in which a railway  
142 formerly ran through stretches of the reserve; REBIO 5: secondary vegetation of the  
143 Atlantic Forest, with floristic recovery similar to the original forest; REBIO 6: flooded  
144 area with portions of arboreal vegetation (flooded forest), herbaceous and aquatic  
145 (marsh). The geographical coordinates of the sampling points were obtained using a  
146 Garmin GPSmap 60CS GPS. The maps were made in Arcview 10® and edited in  
147 Adobe Photoshop CS5® and CorelDraw X5®.

148 Samplings were conducted during three consecutive days in June, July,  
149 September, October, November, and December 2014 and February, March, April, May,  
150 and June 2015. Two types of light traps were used: an automatic CDC with CO<sub>2</sub> trap

151 and (BioQuip®) a Shannon trap, with capture by the aid of a manual suction tube for  
152 specimens occasionally attracted by team members (SOAM) and those that landed in  
153 surrounding vegetation. The collection period was continuous for 24 hours for CDCs,  
154 and between 18:00 and 21:00 each day for Shannon traps and manual suction tubes. The  
155 collections were repeated with the same methodology and temporality at all sampling  
156 points. After collection, the mosquitoes were transferred to standardized cages and then  
157 transported to the laboratory for sorting and identification, with subsequent  
158 incorporation into the Entomological Collection of the Oswaldo Cruz Institute under the  
159 title "Atlantic Forest Collection".

160 The species were identified from morphological characters observed with a  
161 stereomicroscope (Zeiss®), an optical microscope (Nikon®), and consultation of the  
162 respective descriptions and diagnoses of species, using dichotomous keys previously  
163 elaborated (John Lane 1953, Faran & Linthicum 1981, Consoli & Lourenço de Oliveira  
164 1994, and Forattini 2002). Names of genera were abbreviated according to Reinert  
165 (2001).

166

## 167 **Data analysis**

168 The present study used the following software: R Core Team, DivEs (Diversity  
169 of Species v4.0) and PAST (Paleontologicas Statistical v.3.11). R packages used were  
170 Econometric tools for performance and risk analysis (PerformanceAnalytics v.  
171 1.4.3541), Xtensible Time Series (xts v. 0.9-7), Grammar of Graphics (ggplot2 v. 2.1.0),  
172 Political Science Computational Laboratory, Stanford University (pscl v. 1.4.9),  
173 Polychoric and Polyserial Correlations (polycor v. 0.7-9), Procedures for Psychological,  
174 Psychometric, and Personality Research (psych v. 1.6.9), S3 Infrastructure for Regular

175 and Irregular Time Series (Z's Ordered Observations) (zoo v. 1.7-13), and Visualization  
176 of a Correlation Matrix (coorplot v. 0.77).

177 To evaluate and compare differences in the composition of the mosquito  
178 communities in each area, the authors performed data normality analysis by the  
179 Shapiro-Wilk, Shannon-Wiener (log in base 2), and Simpson methods; dominance  
180 analysis by Simpson and Berger-Parker; equity analysis by Shannon-Wiener Equity  
181 (Piellou), Simpson Equity, and Modified Hill Equity Index (EH); and richness by first-  
182 order Jackknife, Data Correlation, and Cluster Analysis (K-means).

183 Diversities were compared to each other using the T-test and for Shannon-Wiener  
184 (Brower *et al.*, 1998) using the DivEs Software (Species Diversity v4.0) (Rodrigues  
185 2004). Diversity and equity indices were calculated based on Shannon-Wiener and  
186 Simpson, and dominance was calculated based on Berger-Parker (Berger & Parker  
187 1970) and Simpson.

188 Data on rainfall, relative humidity, and monthly average temperatures were  
189 obtained from the State Environmental Institute (INEA, Juturnaíba Station). Spearman's  
190 correlation was used with the aid of IBM® SPSS® Statistics Version 23 to analyze the  
191 influence of climatic variables (rainfall, temperature, and relative air humidity) on  
192 Culicidae fauna.

193

## 194 **Results**

195 Considering all of the sampling points, 15,700 specimens of Culicidae from 2  
196 subfamilies, 12 genera, and 41 species were captured. Some of these species are often  
197 indicated as vectors of disease-causing agents to man and other animals, such as  
198 *Anopheles albitarsis* Lynch-Arribálzaga, 1878; *An. darlingi* Root, 1926; *Aedes*

199 *scapularis* (Rondani, 1848); *Culex nigripalpus* Theobald, 1901; *Haemagogus*  
 200 *janthinomys* Dyar, 1921; *Coquillettidia venezuelensis* (Theobald, 1912); *Mansonia*  
 201 *titillans* (Walker, 1848); and *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819) (Table 1). Comparing  
 202 the use of the two types of light traps (CDC and Shannon) as sampling methods, CDC  
 203 traps had a higher population density of specimens collected (Table 1).

204

205 **Table 1: Relative abundance of Culicidae adults collected by CDC and Shannon**  
 206 **traps and SOAM in the Poço das Antas Biological Reserve area, Silva Jardim**  
 207 **municipality, Rio de Janeiro, from June 2014 to June 2015.**

208

Species/Author	2014			2015			Total
	SOAM	CDC	SH	SOAM	CDC	SH	
<i>Ad. (Ady.) squamipennis</i> (Lynch Arribáizaga, 1878).	1	36	115	0	26	1	179
<i>Ae. (Och.) fulvus</i> (Wiedemann, 1828)	0	0	4	1	1	7	13
<i>Ae. (Och.) scapularis</i> (Rondani, 1848)	163	229	203	4	127	55	781
<i>Ae. (Och.) serratus</i> (Theobald, 1901)	11	63	1	9	49	1	134
<i>An. (Nys.) benarrochi</i> Gabaldon, Cova-Garcia & Lopez, 1941.	0	52	4	0	1	0	57
<i>An. (Ano.) mediopunctatus</i> (Lutz), 1903	0	3	4	0	3	4	14
<i>An. (Nys.) albitarsis</i> Lynch Arribáizaga, 1878	0	227	475	0	5	162	869
<i>An. (Nys.) darlingi</i> Root, 1926	0	3	0	0	0	0	3
<i>An. (Ano.) intermedius</i> (Peryassú, 1908)	0	36	0	0	0	0	36
<i>An. (Ste.) kompi</i> Edwards, 1930	0	2	0	0	1	0	3
<i>An. (Ano.) minor</i> Costa Lima, 1929	1	0	0	0	0	0	1
<i>An. (Nys.) triannulatus</i> (Neiva & Pinto, 1922)	5	9	0	0	3	30	47
<i>Cq. (Rhy.) chrysonotum</i> (Theobald, 1912)	2	599	1429	1	657	508	3196
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	2	446	867	0	516	597	2428
<i>Cq. (Rhy.) albicosta</i> (Peryassu, 1908)	0	0	0	0	30	35	65
<i>Cx. (Aed.) amazonensis</i> (Lutz, 1905)	0	5	0	0	131	5	141
<i>Cx. (Car.) iridescens</i> (Lutz, 1905)	0	1	0	0	0	0	1
<i>Cx. (Cux.) bidens</i> Dyar & Knab, 1922	0	0	0	1	0	0	1
<i>Cx. (Cux.) declarator</i> Dyar & Knab, 1906	0	0	0	0	76	8	84
<i>Cx. (Mel.) ocosa</i> Dyar & Knab, 1919	0	38	2	0	0	12	52
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i> Sirivanakarn & Belkin, 1980	0	165	1	0	289	0	455
<i>Cx. (Mel.) pilosus</i> (Dyar & Knab, 1906)	0	39	0	0	0	1	40
<i>Cx. (Mel.) ribeirensis</i> Forattini & Sallum, 1985	0	1005	0	0	1142	14	2161
<i>Culex</i> sp	0	251	4	0	0	0	255
<i>Culex. (Cux.)</i> sp	0	163	22	2	1225	32	1444
<i>Hg. (Hag.) janthinomys</i> Dyar, 1921	0	0	0	3	1	0	4
<i>Li. durhamii</i> Theobald, 1901	0	0	0	0	2	0	2
<i>Ma. (Man.) humeralis</i> (Dyar & Knab, 1916)	1	42	234	0	19	4	300
<i>Ma. (Man.) indubitans</i> Dyar & Shannon, 1925	4	8	0	0	0	0	12
<i>Ma. (Man.) titillans</i> (Walker, 1848).	9	935	1043	2	302	205	2496
<i>Ps. (Jan.) ferox</i> (von Humboldt, 1820)	1	1	0	0	2	0	4
<i>Runchomyia</i> sp	1	0	0	1	5	0	7
<i>Ur. (Ura.) apicalis</i> Theobald, 1903	0	21	0	0	62	0	83
<i>Ur. (Ura.) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	0	26	0	0	19	0	45
<i>Ur. (Ura.) geometrica</i> Theobald, 1901	0	13	0	0	0	0	13
<i>Ur. (Ura.) hystera</i> Dyar & Knab, 1913	0	7	0	0	5	0	12

<i>Ur. (Ura.) mathesoni</i> Lane, 1943	0	4	0	0	0	0	4
<i>Ur. (Ura.) pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	0	6	0	0	0	0	6
<i>Wyeomyia</i> sp	0	1	0	1	0	0	2
<i>Ps. (Jan.) albipes</i> (Theobald, 1907)	64	48	53	6	25	11	207
<i>Ru. (Run.) cerqueirai</i> Stone, 1944	0	6	0	0	0	0	6
<i>Ur. (Ura.) incognita</i> Galindo, Blanton, & Peyton, 1954	0	1	0	0	0	0	1
<i>Li. pseudomethysticus</i> (Bonne-Wepster & Bonne, 1919)	0	0	0	1	0	0	1
<i>Cx. nigripalpus</i> Theobald, 1901	0	0	0	0	2	0	2
<i>Cx. dumni</i> Dyar, 1918	0	0	0	0	33	0	33
<b>TOTAL</b>	<b>265</b>	<b>4491</b>	<b>4461</b>	<b>32</b>	<b>4759</b>	<b>1692</b>	<b>15700</b>

209

210 SOAM = specimens occasionally attracted by team members, CDC with CO<sub>2</sub> trap, SH = Shannon trap.

211

212 The most representative species were *Coquillettidia chrysonotum* (Peryassú,  
 213 1922), *Mansonia titillans*, and *Cq. venezuelensis*. The species with lower population  
 214 densities were *Uranotaenia incognita* Galindo (Blanton & Peyton, 1954), *Limatus*  
 215 *pseudomethysticus* (Bonne-Wepster & Bonne, 1920), and *Culex bidens* Dyar & Knab,  
 216 1922 (Table 1). Capture by CDC traps was more diversified (Shannon-Wiener and  
 217 Simpson - 3.4421 and 0.8673, respectively) and, therefore, dominance is higher when  
 218 diversity is lower (SOAM). The greatest equity occurred with the CDC traps,  
 219 confirming the relationship of this index to diversity. Moreover, capture by CDC traps  
 220 showed the highest species richness (Table 2).

221

222 **Table 2. Diversity, dominance, and species equity of Culicidae, captured by CDC and**  
 223 **Shannon light traps, and SOAM in the Poço das Antas Biological Reserve area, Silva Jardim**  
 224 **municipality, Rio de Janeiro, from June 2014 to June 2015.**

225

Traps	Diversity*		Dominance**		Equity***		Richness****		
	H'	Ds	d	Ls	EqJ	ED	S <sub>Max</sub>	s <sup>2</sup>	S <sub>Obs</sub>
SOAM	1.7403	0.5618	0.6151	0.4382	1.5623	0.6063	13	0	13
CDC	3.4421	0.8673	0.2238	0.1327	2.2475	0.8934	51	0.75	34

Traps	Diversity*		Dominance**		Equity***		Richness****		
	H'	Ds	d	Ls	EqJ	ED	S <sub>Max</sub>	s <sup>2</sup>	S <sub>Obs</sub>
SH	2.5422	0.7881	0.3203	0.2119	2.1112	0.8405	26.6667	16	1.1111

226

227 \* H' –Shannon-Wiener Diversity; Ds –Simpson Diversity; \*\* d –Berger-Parker Dominance; ls  
 228 – Simpson dominance; \*\*\*EqJ –Shannon-Wiener Equity (Piellou); ED – Simpson Equity; \*\*\*\*  
 229 First-order Jackknife species richness: S<sub>Max</sub> – Estimated richness; s<sup>2</sup> - variance; S<sub>Obs</sub> – observed  
 230 richness. SOAM = specimens occasionally attracted by team members, CDC with CO<sub>2</sub> trap, SH  
 231 = Shannon trap.

232

233

234 In the comparison between diversities by type of trap, samples with a significant  
 235 difference ( $\alpha = 0.05$ ) show that the diversities are different, and there is variation  
 236 between them, which can be verified not only by the calculated values of diversity of  
 237 Shannon-Wiener but also by the first-order Jackknife richness, as they are proportional  
 238 and correlated indices (Table 2).

239 Comparing the results obtained in the six collection points (REBIO 1 to 6) in  
 240 2014, it was found that point REBIO-1 presented a higher specific diversity (Shannon-  
 241 Wiener = 3.2061 and Simpson = 0.8626) and higher equity (Shannon-Wiener Equity =  
 242 2.6626 and Simpson = 0.9184). The dominance index showed that sampling point  
 243 REBIO-4 was the one with the least diversity (Shannon-Wiener = 2.3869 and Simpson  
 244 = 0.7571). Point REBIO-6, in contrast, had the highest richness index (S<sub>Max</sub> = 45.83; S<sup>2</sup>  
 245 1.52), while REBIO-1 had the lowest index (S<sub>Max</sub> = 16; S<sup>2</sup> 0) (Table 3).

246

247 **Table 3. Diversity, dominance, and equity of Culicidae species at six sampling points, in**  
 248 **captures made in 2014 and 2015 in the Poço das Antas Biological Reserve area, Silva Jardim**  
 249 **municipality, Rio de Janeiro, Brazil.**

Point	Year	Diversity*		Dominance**		Equity***		Richness****		
		H'	Ds	d	Is	Eq <sub>J</sub>	E <sub>D</sub>	S <sub>Max</sub>	s <sup>2</sup>	S <sub>Obs</sub>
REBIO -1	2014	3.2061	0.8626	0.2495	0.1374	2.6626	0.9184	16.0000	0.0000	16
	2015	2.5726	0.7566	0.4182	0.2434	2.1365	0.8057	16.0000	0.0000	16
REBIO -2	2014	2.5804	0.7292	0.4649	0.2708	1.9516	0.7648	31.5000	0.7500	21
	2015	2.7879	0.7887	0.3565	0.2113	2.0768	0.8256	33.0000	0.7500	22
REBIO-3	2014	2.5467	0.7888	0.3481	0.2112	2.2862	0.8541	21.6667	1.1111	13
	2015	2.9867	0.8430	0.2358	0.1570	2.4804	0.8984	26.6667	1.1111	16
REBIO-4	2014	2.3869	0.7571	0.3172	0.2429	2.1427	0.8189	22.7500	1.3125	13
	2015	2.7050	0.8222	0.252	0.1778	2.3000	0.8792	26.2500	1.3125	15
REBIO-5	2014	2.8548	0.8183	0.3304	0.1817	2.4274	0.8741	27.0000	1.4400	15
	2015	2.7229	0.8098	0.2940	0.1902	2.3757	0.8712	25.2000	1.4400	14
REBIO-6	2014	2.7688	0.8155	0.2836	0.1845	1.9806	0.8493	45.8333	1.5278	25
	2015	3.0102	0.8262	0.3028	0.1738	2.2424	0.8651	40.3333	1.5278	22

251

252

253

254 In 2015, among the six sampling points (REBIO 1 to 6), it was found that  
255 REBIO-6, located in a flooded area, presented greater diversity, considering the traps  
256 used, with a higher frequency of *Ma. tittillans* and *Cq. venezuelensis* (Shannon-Wiener  
257 = 3.0102 and Simpson = 0.8262). In contrast, REBIO-1 presented higher dominance (d  
258 = 0.4182 and Is = 0.2434) (Table 3). In the REBIO-2 forest area, which had bamboo  
259 vegetation, the species that presented the highest frequency were *Cx. pedroi*  
260 Sirivanakarn & Belkin, 1980 and *Cx. ribeirensis* Forattini & Sallum, 1985. The highest  
261 equity was found in the sampling point REBIO-3, which diverges from the logic of  
262 proportionality between the diversity and equity indices. However, it was observed that  
263 the diversity had considerably close values. Regarding species richness, it was found  
264 that capture by CDC traps resulted in greater diversity of species (Table 3).

265 It was observed that comparison between the collection points and sampling  
266 periods with significant differences between them ( $\alpha = 0.05$ ) showed that the diversities  
267 are different, and there is variation between them, which can be verified not only in the

268 calculated values of diversity of Shannon-Wiener but also in the first-order Jackknife  
 269 richness, as they are proportional and correlated indices (Table 4).

270

271

272 **Table 4. Values of the Student's *t*-test at 5% probability ( $\alpha = 0.05$ ) of the comparisons of the**  
 273 **Shannon-Wiener diversities, in 11 months of sampling in the Poço das Antas Biological**  
 274 **Reserve area, Silva Jardim municipality, Rio de Janeiro, Brazil.**

275

Months of sampling											
	J	J	S	O	N	D	F	M	A	M	J
J	-	0.0422 <sup>ns</sup>	2.7252*	3.4247*	7.8835*	2.3885*	6.1202*	1.7054 <sup>ns</sup>	2.4786*	8.3598*	2.8654*
J	0.0422 <sup>ns</sup>	-	2.9093*	3.6811*	8.4878*	2.5308*	6.2596*	1.7724 <sup>ns</sup>	2.5387*	9.2033*	3.0432*
S	2.7252*	2.9093*	-	0.4889 <sup>ns</sup>	11.484*	0.1169 <sup>ns</sup>	8.2086*	4.8711*	4.9157*	12.444*	6.3145*
O	3.4247*	3.6811*	0.4889 <sup>ns</sup>	-	13.715*	0.5672 <sup>ns</sup>	8.9091*	5.9793*	5.635*	15.511*	7.7849*
N	7.8835*	8.4878*	11.484*	13.715*	-	9.9504*	1.5574 <sup>ns</sup>	7.6374*	3.6664*	0.897 <sup>ns</sup>	7.4091*
D	2.3885*	2.5308*	0.1169 <sup>ns</sup>	0.5672 <sup>ns</sup>	9.9504*	-	7.7225*	4.2366*	4.4905*	10.463*	5.4295*
F	6.1202*	6.2596*	8.2086*	8.9091*	1.5574 <sup>ns</sup>	7.7225*	-	5.38*	3.7371*	1.9313 <sup>ns</sup>	4.8833*
M	1.7054 <sup>ns</sup>	1.7724 <sup>ns</sup>	4.8711*	5.9793*	7.6374*	4.2366*	5.38*	-	1.2871 <sup>ns</sup>	8.6596*	1.2899 <sup>ns</sup>
A	2.4786*	2.5387*	4.9157*	5.635*	3.6664*	4.4905*	3.7371*	1.2871 <sup>ns</sup>	-	3.5803*	0.4971 <sup>ns</sup>
M	8.3598*	9.2033*	12.444*	15.511*	0.897 <sup>ns</sup>	10.463*	1.9313 <sup>ns</sup>	8.6596*	3.5803*	-	9.1452*
J	2.8654*	3.0432*	6.3145*	7.7849*	7.4091*	5.4295*	4.8833*	1.2899 <sup>ns</sup>	0.4971 <sup>ns</sup>	9.1452*	-

276

277 <sup>ns</sup> There is no significant difference between the diversities, according to the *t*-test for H' at 5%  
 278 probability;

279 \* There is a significant difference between the diversities, according to the *t*-test for H' at 5% probability.

280

281 Cluster analysis of sampling points during the months of capture in 2014 show  
 282 that *Cx. ribeirensis* and *Cq. venezuelensis* presented the greatest distance regarding

283 absolute numbers of occurrence between sampling points, i.e., collection points in 2014  
284 (REBIO1 to 6) (**Fig 2**). However, during the months of capture in 2015, *Cx. ribeirensis*  
285 and *Cq. venezuelensis*, presented a smaller distance regarding absolute numbers of  
286 occurrence between the collection points studied, i.e., collection points in 2014 (from  
287 REBIO1 to 6) (**Fig 3**).

288

289 **Fig 2. Cluster analysis by complete Euclidian method for the absolute frequency of**  
290 **Culicidae species at six sampling points, for captures made in 2014 in the Poço das**  
291 **Antas Biological Reserve area, Silva Jardim municipality, Rio de Janeiro, Brazil.**

292

293 **Fig 3. Cluster analysis by the complete Euclidian method for the absolute**  
294 **frequency of Culicidae species at six sampling points, for captures made in 2015 in**  
295 **the Poço das Antas Biological Reserve area, Silva Jardim municipality, Rio de**  
296 **Janeiro, Brazil.**

297

298 Based on cluster analysis using the complete Euclidean method, it was possible  
299 to determine that *Ps. ferox* and *Sa. identicus* are the species that have the greatest  
300 variation when considering occurrence and fluctuation during the 11 months of study.  
301 This variation using the complete Euclidean method follows with the following species:  
302 *Wy. arthro stigma* (Lutz, 1905), *Ad. squamipennis* (Lynch Arribalzaga, 1878) and *Wy.*  
303 *oblitus* (Lutz, 1904). The species that most distanced itself from the others was *Cx.*  
304 *neglectus* Lutz, 1904, coincidentally the species with the highest frequency (327  
305 specimens) in the 11 months, and had a regular presence, except for three months (June,  
306 July, and December). According to the cluster analysis, the other species formed groups  
307 and were close to each other (**Fig 4**).

308

309 **Fig 4. Cluster analysis by the complete Euclidian method, for the absolute**  
 310 **frequency of the species, in 11 months of sampling in the Poço das Antas Biological**  
 311 **Reserve area, Silva Jardim municipality, Rio de Janeiro, Brazil.**

312

313 Considering the total number of specimens captured, there was a positive  
 314 correlation with temperature alone. In this case, seven species presented a positive  
 315 correlation with temperature: *Ad. squamipennis*, *Cq. chrysonotum*, *Cq. venezuelensis*,  
 316 *Cx. ribeirensis*, *Ma. Titillans*, and *Ps. Albipes*. With an increase in temperature, there  
 317 was an increase in population density. Moreover, *Ad. squamipennis* showed a positive  
 318 correlation with rainfall (Table 5).

319

320 **Table 5: Spearman correlation between the Culicidae population density of the**  
 321 **Poço das Antas Biological Reserve and temperature (T), relative humidity (RH),**  
 322 **and rainfall (R). \* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed). \*\***  
 323 **Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).**

Species	Correlation Coefficient		
	T (°C)	RH (%)	R (mm)
<i>Ad. (Ady.) squamipennis</i> (Lynch Arribáizaga, 1878).	0.920**	-0.494	0.793**
<i>Ae. (Och.) scapularis</i> (Rondani, 1848)	0.082	-0.372	0.145
<i>An. (Nys.) albitarsis</i> Lynch Arribáizaga, 1878	0.115	-0.401	-0.037
<i>Cq. (Rhy.) chrysonotum</i> (Theobald, 1912)	0.800**	-0.381	0.264
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	0.673*	-0.028	0.409
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i> Sirivanakarn & Belkin, 1980	0.323	0.452	0.182
<i>Cx. (Mel.) ribeirensis</i> Forattini & Sallum, 1985	0.651*	0.070	0.292
<i>Culex</i> sp	0.607*	-0.373	0.431
<i>Culex. (Cux.)</i> sp	-0.191	0.485	-0.182
<i>Ma. (Man.) humeralis</i> (Dyar & Knab, 1916)	0.296	0.089	0.085
<i>Ma. (Man.) titillans</i> (Walker, 1848).	0.618*	-0.586	0.445
<i>Ps. (Jan.) albipes</i> (Theobald, 1907)	0.653*	0.253	0.316
<b>TOTAL</b>	0.664*	-0.070	0.327

## 324 **Discussion**

325 Knowledge of biodiversity of mosquitoes in the Atlantic Forest is of great  
326 importance for evaluating changes in the pattern of its populations' distributions, which  
327 were until now considered to be predominantly sylvan. These studies are a priority if we  
328 consider the recent health problems of human communities in areas surrounding forest  
329 environments in the state of Rio de Janeiro, especially for cases of sylvatic yellow fever  
330 in the first months of 2017. Thus, evaluation of Culicidae species in the Poço das Antas  
331 Biological Reserve becomes paramount because of its proximity to the locations where  
332 sylvatic yellow fever cases were diagnosed, lack of basic data on the presence of  
333 pathogen vectors, and because the bioecological structure of Culicidae populations in  
334 this area has not been yet studied.

335 We must also consider that, under natural conditions, vector mosquitoes are  
336 distributed in stable and balanced communities in relation to the variables of the  
337 ecosystem as a whole. Risk of emergence of some diseases in regions of the Atlantic  
338 Forest, due to industrial and tourist expansion, was reported in different studies  
339 conducted in environmental preservation areas, such as the Iguaçu National Park,  
340 southwest of the state of Paraná (Guimarães *et al.*, 2003), Serra dos Órgãos National  
341 Park (Guimarães & Arlé 1984), Serra da Bocaina National Park (Guimarães *et al* 2001)  
342 in Rio de Janeiro, and Serra do Mar State Park (Guimarães *et al.*, 2000) in São Paulo.  
343 Azevedo (1997) and Guimarães *et al.* (2000) reported the possibility of malaria  
344 transmission in areas of the Atlantic Forest in São Paulo and Rio de Janeiro,  
345 respectively, due to new trends in human ecology. Thus, it is possible to infer that the  
346 emergence of many epidemics is directly related to problems of human ecology, often  
347 caused by the incentive for ecotourism in areas of environmental preservation.

348           The number of species found in the Poço das Antas Biological Reserve (41  
349 species, 12 genera) was similar to other studies conducted in fragments of the Atlantic  
350 Forest in areas under environmental preservation in Rio de Janeiro State (Guimarães &  
351 Arlé 1984, Guimarães *et al.*, 2001, Guimaraes *et al.*, 2000). However, in these studies,  
352 compared to the present data, the biocenotic structure of the species was only  
353 moderately similar. Alencar *et al.* (2010) and (Silva *et al.* (2014) found about 59 species  
354 of mosquitoes from 14 genera in an Atlantic Forest fragment in the municipality of  
355 Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Alencar *et al.* (2011) found 61 species of  
356 Culicidae in the Tinguá Biological Reserve, Rio de Janeiro, while Correa *et al.* (2014)  
357 found 31 species from 12 genera in the natural protection area of Nova Iguaçu  
358 Municipal Park, also located in the state of Rio de Janeiro. According to Figueiró *et al.*  
359 (2012), ecosystems that have several communities composed of populations with  
360 relatively few individuals are considered communities with high uniformity and  
361 equitability.

362           The present study showed significant differences in species richness among the  
363 sampling points. REBIO-1, characterized by a vegetation cover abundantly composed  
364 of endemic plants of the region, showed a greater diversity in 2014. In the same year, in  
365 contrast, REBIO-2 showed a higher dominance of Culicidae, as dominance is larger  
366 where diversity is lower. According to Richardson (1999), stable ecosystems, such as  
367 forests, have a high diversity of species. Diversity tends to be reduced in biotic  
368 communities that experience stress.

369           Alencar *et al.* (2012), using CDC and Shannon light traps as sampling methods,  
370 found that the pattern of species richness of mosquitoes from different capture points  
371 was strongly influenced by the predominance of *Cq. fasciolata* (Lynch Arribálzaga,  
372 1891) over the other species. Moreover, different from what occurred in Poço das

373 Antas, where the highest population density of captured mosquitoes was in the CDC  
374 traps, Alencar *et al.* (2012) found a greater number of specimens collected with  
375 Shannon light traps.

376 In the present study, we collected more *Coquillettidia chrysonotum* and *Cq.*  
377 *venezuelensis* with the aid of Shannon light traps, while there was almost no difference  
378 in captures of *Ma. titillans* taken by either CDC or Shannon traps. Among the  
379 anophelines, *An. albitarsis* was the species with the greatest population density. This  
380 species is important in the epidemiology of malaria, usually being a secondary vector,  
381 especially where the transmission by *An. darlingi* occurs (Teodoro *et al.* 1995, Tadei &  
382 Thatcher 2000)

383 Arruda *et al.* (1986) observed, in Belém, Pará State, Brazil, that some species  
384 were infected, and among them was *An. Albitarsis*. It is noteworthy that the highest  
385 population densities recorded for the species *Coquillettidia chrysonotum*, *Cq.*  
386 *venezuelensis*, *Ma. titillans*, and *An. albitarsis* during the sampling period can be  
387 justified by favorable maintenance of the breeding sites of these taxa, including water  
388 collections of a certain size, emergent vegetation that is constant throughout the year,  
389 and no defined dry season in the region. It is also known that representatives of the  
390 Mansoniini tribe, when their proliferation is favored by the presence of breeding sites,  
391 become numerous, overlapping with the other species (Consoli & Lourenço de Oliveira  
392 1994).

393 Culicidae species were influenced mainly by temperature variations. This  
394 positive correlation between temperature and number of specimens captured can be  
395 explained by the fact that the activity of the mosquitoes is influenced to a certain extent  
396 by the increase in temperature which facilitates their development cycle (Montes, 2005).  
397 Thus, the specimens occur in greater numbers in the hottest months of the year, as

398 indicated in this study conducted mainly between November and March. There was no  
399 significant correlation between relative air humidity and mosquito density. This was  
400 because humidity remained high and constant during the sampling period (between 77  
401 and 100%).

402 Silva (2011) observed in the Iguazu National Park, Paraná that the Culicidae  
403 fauna was influenced mainly by temperature, similar to what happened in Poço das  
404 Antas. It was also found that in the Serra do Mar State Park, there was a positive  
405 correlation with the three abiotic factors analyzed for the *Cq. chrysonotum* and *Cq.*  
406 *venezuelensis* species (Silva, 2011), while in our observations these same species  
407 showed a positive correlation only for temperature. The climatic factors, rainfall, and  
408 relative humidity seem to have a secondary influence on the frequency of these taxa in  
409 the Poços das Antas Biological Reserve, in which their breeding sites remained constant  
410 throughout this period, favoring the maintenance of the species.

411 The present study concludes that although the area studied is reduced to a few  
412 fragments of the Atlantic Forest, mostly discontinuous, the fauna of mosquitoes  
413 presented a relative richness with the presence of some species of great epidemiological  
414 importance. As we found yellow fever virus vectors and confirmed cases of the disease  
415 in humans in the area surrounding the conservation unit, we recommend active and  
416 constant entomological surveillance in the region.

417

## 418 **Acknowledgements**

419 We would like to thank the Electron Microscopy Platform of the Instituto  
420 Oswaldo Cruz for allowing the use of the scanning electron microscope. The authors

421 thank Gustavo Luna Peixoto, head of the conservation unit, Poço das Antas Biological  
422 Reserve (REBIO-PA), for the facilities granted for conducting the present study.

423

## 424 **Funding**

425 This work was supported by the Research Support Foundation of the State of  
426 Rio de Janeiro (FAPERJ; grant numbers 26/010.001630/2014, E-26/202.819/2015) and  
427 the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES; grant  
428 number 1539342).

429

## 430 **References**

431 Alencar J, de Mello CF, Serra-Freire NM, Guimarães A, Gil-Santana HR, Gleiser RM.  
432 Biodiversity and temporal distribution of immature Culicidae in the Atlantic forest, Rio  
433 de Janeiro State, Brazil. *PloS One*. 2016; 11(7): e0159240.

434 Alencar J, Ferreira ZM, Lopes CM, Serra-Freire NM, De Mello RP, Dos Santos Silva J,  
435 Guimarães AÉ. Biodiversity and times of activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in  
436 the biome of the Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Entomol*.  
437 2011;48: 223–231.

438 Alencar J, De Mello CF, Guimarães AÉ, Gil-Santana HR, Dos Santos Silva J, Santos-  
439 Mallet JR et al. Culicidae community composition and temporal dynamics in Guapia??u  
440 ecological reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One*. 2015;10:  
441 1–16.

442 Alencar J, Mello VS, Freire NMS, Silva JS, Morone FC, Guimarães, AE. Evaluation of  
443 Mosquito (Diptera: Culicidae) species richness using two sampling methods in the  
444 hydroelectric reservoir of Simplício, Minas Gerais, Brazil. *Zool Sci.* 2012;29: 218-222.  
445 Guimarães, AE, Arlé M. Mosquitos no parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do  
446 Rio de Janeiro, Brasil. I Distribuição Estacional. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1984;79:  
447 309–323.

448 Arruda M, Carvalho MB, Nussenzweig RS, Maracic M, Ferreira AW, Cochrane AH.  
449 Potential vectors of malaria and their different susceptibility to *Plasmodium*  
450 *falciparum* and *Plasmodium vivax* in northern Brazil identified by immunoassay. *Am J*  
451 *Trop Med Hyg.* 1986;35: 873-881.

452 Azevedo AL. Aspectos da Epidemiologia da Malária e da Biologia de *Anopheles*  
453 (*Kertessia*) *cruzei* Dyar & Knab em Vales Montanhosos do Sistema de Mata Atlântica.  
454 M. Sc. Thesis, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro; 1997. pp. 94

455 Berger WH, Parker FL. Diversity of planktonic foraminifera in deep-sea sediments.  
456 *Science.*1970;168: 1345–1347.

457 Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária  
458 no Brasil. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 1994.

459 Correa FF, Gleiser RM, Leite PJ, Fagundes E, Gil-Santana HR, Mello CF, et al.  
460 Mosquito (Diptera: Culicidae) communities in Nova Iguaçu Natural Park Rio de  
461 Janeiro, Brazil. *J Am Mosquito Control Assoc* 2014;30: 83–90. doi: 10.2987/13-6372.1

462 Dantas ME. Mapa geomorfológico do Estado do Rio de Janeiro. Brasília: CPRM; 2001.  
463 p. 63

464 Faran ME, Linthicum KJ. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles*  
465 (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). *Mosquito System.* 1981;13: 001–081.

466 Figueiró R, Gil-Azevedo LH, Maia-Herzog M, Monteiro RF. Diversity and  
467 microdistribution of black fly (Diptera: Simuliidae) assemblages in the tropical  
468 savanna streams of the Brazilian cerrado. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;107: 362-  
469 369.

470 Forattini OP. Culicidologia Médica. 2nd ed. São Paulo: EDUSP, Universidade de São  
471 Paulo; 2002

472 Forattini OP, Massad E. Culicidae vectors and antropic changes in a Southern Brazil  
473 natural ecosystem. Ecosyst Health. 1998;4: 9-19.

474

475 Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Sant'Anna A. Ecologia de mosquitos em áreas do  
476 Parque Nacional da Serra da Bocaina. II - Frequencia mensal e fatores climáticos. Rev  
477 de Saúde Pública 2001;35: 392–399.

478 Guimarães AÉ, Lopes CM, Mello RP De, Alencar J. Ecologia de mosquitos (Diptera,  
479 Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil: 1 - Distribuição por hábitat.  
480 Cadernos de Saúde Pública 2003;19: 1107–1116.

481 Guimarães AÉ, De Mello RP, Lopes CM, Gentile C. Ecology of mosquitoes (Diptera:  
482 Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I - Monthly  
483 Frequency and Climatic Factors. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000;95: 1–16.

484 Harbach R. Family Culicidae Meigen, 1818. Mosquito Taxonomic Inventory. 2008.  
485 Available: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/family-culicidae-meigen-1818#>.

486 Instituto Brasileiro de Defesa Florestal (IBDF)-Fundação Brasileira para a Conservação da  
487 Natureza. Plano de manejo - Reserva Biológica de Poço das Antas. Brasília, Brasil: Ministério  
488 da Agricultura; 1981.

489 Brower JE, Zar JH, von Ende CN. Field and laboratory methods for general ecology. 4<sup>th</sup>  
490 ed. Dubuque, Iowa: WCB Mc Graw Hill; 1997.

491 Lane J. Neotropical Culicidae Vol II. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1953.

492 Wilkerson RC, Linton YM, Fonseca DM, Schultz TR, Price DC, Strickman DA.  
493 Making mosquito taxonomy useful: a stable classification of tribe Aedini that balances  
494 utility with current knowledge of evolutionary relationships. PLoS One. 2015;10:  
495 e0133602. doi: 10.1371/journal.pone.0133602

496 Keesing F, Holt RD, Ostfeld RS. Effects of species diversity on disease risk. Ecol  
497 Letters 2006;9: 485–498

498 Montes J. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. Rev Saúde  
499 Pública 2005;39: 578-584.

500 Reinert JF. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (diptera)  
501 and notes on generic and subgeneric changes. J Am Mosq Control Assoc. 2001;17: 51–  
502 55.

503 Richardson BA. The Bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a  
504 neotropical forest. *Biotropica* 1999;31: 321–336.

505 Rodrigues WC. Diversidade de Espécies (versão 4.0). [Software]. 2004 Available from:  
506 <http://dives.ebras.bio.br> (June 25, 2017).

507 Silva JS. Biodiversidade e Padrões alimentares de mosquitos (Diptera: Culicidae) em  
508 seis áreas brasileiras de preservação ambiental. PhD Thesis, Museu Nacional -  
509 Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2011.

510 Silva JS, Couri MS, Giupponi APL, Alencar J. Mosquito fauna of the Guapiaçu  
511 Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil, collected under the  
512 influence of different color CDC light traps. J Vector Ecol. 2014;39: 384–394.

513 Tadei WP, Thatcher BD. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: *Anopheles* of the

514 subgenus *Nyssorhynchus*. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2000;42: 87–94.

515 TeodoroU, Guilherme ALF, Lozovei AL, Salvia Filho V, Fukushigue Y, Spinosa RP,

516 Ferreira MEMC, Barbosa OC, Lima EM. Culicídeos do lago de Itaipu no rio Paraná, sul

517 do Brasil. Rev. Saúde Públ. 1995;29: 6-14.

518

519

10.1590/1519-6984.171829

Comparing the egg ultrastructure of three *Psorophora ferox*

Mello, C.F. et al.

Original Article ou Short communication

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## Comparing the egg ultrastructure of three *Psorophora ferox* (diptera: culicidae) populations

C. F. de Mello<sup>a,b</sup>, J. R. Santos-Mallet<sup>c</sup>, A. T. Ferreira<sup>a,b</sup> and J. Alencar<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Diptera Laboratory, Oswaldo Cruz Institute – FIOCRUZ, Avenida Brasil, n. 4365, Manguinhos, CEP 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

<sup>b</sup>Postgraduate Program on Animal Biology, Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro – UFRRJ, Rd BR 465, Km 7, CEP 23897-000, Seropédica, RJ, Brazil

<sup>c</sup>Interdisciplinary Entomological Surveillance Laboratory in Diptera and Hemiptera, Oswaldo Cruz Institute – FIOCRUZ, Avenida Brasil, n. 4365, Manguinhos, CEP 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

\*e-mail: jalencar@ioc.fiocruz.br

Received: 10 November, 2016 – Accepted: 28 March, 2017 – Distributed: 31 October, 2018

(With 1 figure)

### Abstract

Characterising the external morphology of mosquito eggs is important, since it facilitates the identification of material from breeding sites and contributes to the understanding of species biology and group systematics. Therefore, was to compare eggs from different *Psorophora ferox* populations using scanning electron microscopy (SEM). Eggs were obtained from adult female of *Ps. ferox* collected in the Poços das Antas Biological Reserve (Reserva Biológica de Poços das Antas, Rio de Janeiro, Brazil). From each female, one portion of eggs (n = 5) was reared for identification purposes, and the second portion (n = 10) was examined using SEM for morphometric analysis. The egg morphology was then compared to that of eggs from *Ps. ferox* populations in Florida (USA) and Arena (Trinidad). The exochorion ornamentation of the populations differs considerably in the morphology of the tubercles of the chorionic cells, external chorionic reticulum, micropylar collar, and micropyle.

Keywords: Scanning electron microscopy, mosquitoes, Aedini, morphometry, egg.

### Comparação da ultraestrutura de ovos de três populações de *Psorophora ferox* (diptera: culicidae)

### Resumo

Caracterização da morfologia externa dos ovos do mosquito é importante, uma vez que facilita a identificação de materiais a partir de locais de reprodução e contribui para a compreensão da biologia das espécies e sistemática do grupo. O objetivo do presente estudo foi comparar os ovos de diferentes populações *Psorophora ferox* usando MEV. Os ovos foram obtidos a partir de fêmeas de *Ps. ferox* que foram coletadas na Reserva Biológica de Poço das Antas (Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil). A partir de cada fêmea, uma parte dos ovos (n = 5) foi criado para fins de identificação, e uma segunda parte (n = 10) foi examinado usando MEV para análise morfométrica. Foi então comparada a morfologia dos ovos de populações de *Ps.ferox* da Flórida (EUA) e Arena (Trinidad). A ornamentação do exocório das populações difere consideravelmente na morfologia dos tubérculos das células coriônicas, retículo coriônico externo, colar micropilar e micrópila.

Palavras-chave: Microscopia eletrônica de varredura, mosquitos, Aedini, morfometria, ovo.

## 1. Introduction

The tribe Aedini (Culicidae) includes 1,255 species, of which several are medically important vectors of yellow fever, dengue, and other arboviruses. Several morphological aspects of these species have been investigated; however, the eggs of only 16% of the species in tribe Aedini have been studied, mostly by light microscopy (Reinert, 2005). Approximately 30% of the species of *Psorophora* have their eggs described and illustrated (Reinert, 2010; Pacheco et al., 2012). The characterisation of insect eggs using SEM facilitates the direct identification of insect species and eliminates the need to foster the development of eggs

into identifiable phases *via* laboratory rearing, which is usually laborious, costly, and carries certain risks if the insect is a disease vector. In addition, the information obtained using SEM can also be used for phylogenetic studies.

*Psorophora* spp., which are commonly known as flood mosquitoes, lay their eggs in ground water, much like other Aedini mosquitoes, and frequently wait for flooding before laying eggs. Most species of the genus are widely distributed, and *Psorophora (Janthinosoma) ferox* (Humboldt 1819) has been reported to occur in the three Americas from Ontario (south Canada) to northern Argentina and Uruguay, with a distribution that spreads east of the Andes Cordillera and includes the central, eastern, and southeastern areas of the USA, Mexico, Central America, the Antilles, Colombia, Venezuela and Brazil (Forattini, 2002; Orlandin et al., 2017). *Ps. ferox* has been reported to harbour several arboviruses, namely Rocio (Lopes et al., 1981), West Nile virus (Kulasekera et al., 2001), eastern equine encephalitis (Cupp et al., 2004), and Ilheus virus (Turell et al., 2005), and were also shown to transmit Rocio experimentally (Mitchell et al., 1986).

Although Light microscope (LM) has been used since the beginning of the 20<sup>th</sup> century and continues to be used sporadically, Scanning electron microscopy (SEM) has facilitated more detailed descriptions of egg surfaces since the 1960s. Linley and Chadee (1990) used SEM to determine the exochorion patterns of eggs from several *Psorophora ferox* populations. They reported that the exochorion patterns of *Ps. ferox* from Florida (USA) were clearly different from those of *Ps. ferox* from Trinidad, in both the number and shape of the external chorionic tubers in each chorionic cell.

The present study aimed to compare *Ps. ferox* eggs from different geographical regions, using SEM to perform a morphometric analysis of the main exochorion structures.

## 2. Material and Methods

To obtain eggs, female *Ps. ferox* were collected from Poço das Antas Biological Reserve (Reserva Biológica Poço das Antas; REBIO-PA), which includes 5,226 ha (perimeter of 44 km) and is located in the central part of the Silva Jardim municipality, Rio de Janeiro, Brazil (22°33'11.4" S and 42°17'49.8" W.). Five blood-fed females were captured, sampling was conducted over 2 months (march and april 2015), using an oral suction tube, and taken to the laboratory, where they were maintained in 30 ml plastic vials until they laid eggs (4-5 d).

Immediately after oviposition, 15 eggs were taken from each female: five eggs were reared in a total of 25, and ten were submitted to morphometric analyses in a total of 50. The species was identified using Forattini dichotomous keys (2002).

For the SEM analysis, the eggs were removed from the filter paper using a brush, fixed in 2.5% glutaraldehyde, and post-fixed in 1% osmium tetroxide, both in 0.1 M sodium cacodylate buffer at 7.2 pH. After being washed in the buffer, the eggs were dehydrated in an increasing ethanol series, and critical-point dried using super-dry CO<sub>2</sub> in a Balzers device (Hayat, 1970). The eggs were then mounted on metal supports, coated with gold, and observed using a JEOL JSM 6390LV scanning electron microscope (JEOL, Ltd., Akishima, Tokyo, Japan) at 200-5,000× magnification. The eggs were also photomicrographed in both dorsal and ventral positions in order to observe both the exochorion and micropyle.

Morphological measurements were directly performed by measuring the features on the photomicrographs, using Semafore digital slow scan image recording system, version 3.1 (Insinooritoimisto J. Rimppi Oy, Ojakkala, Finland), and analysed using SEM Control User Interface version 8.24 (JEOL, Ltd.), which was coupled to the microscope. The measured parameters included total length, total width, chorionic tubercle diameter, micropyle, and micropyle annexes, for comparison with the data obtained by Linley and Chadee (1990). The terminology used to describe the eggs followed Harbach and Knight (1980), and the genera have been abbreviated as proposed by Reinert (2009).

## 3. Results

The *Ps. ferox* eggs are deep black in colour and separately, strongly adherent to the surface. When observed by SEM, the eggs were elliptical, with a mean length and width of 816.8 and 205.6 µm, respectively, and egg index (length/width ratio) was 3.97. (Figure 1A). The exochorion presented a regular distribution of chorionic reticulum, with hexagonal and sometimes pentagonal chorionic cells internally coated by small tubercles (length: 12.9-17.9 µm; width: 5.14-6.22 µm). The small tubercles were irregularly shaped, being rectangular, rounded, square, or tubular, and their densities ranged from 18 to 22 tubercles per cell (16.2 ± 3.21; n = 10). In addition, the exochorion also presented large, conical tubercles (length 13-18 µm; width 5.1-6.2 µm) at one extremity of the chorionic cells (Figure 1B), which contrasted with the patterns observed in the eggs of other *Psorophora* spp. (Table 1), thus distinguishing the eggs of *Ps. ferox* from those of its congeners. Meanwhile, the tubercles exhibited a porous appearance, without any nodules on their surface, and the surface of the chorionic reticulum in the anterior region of the egg was not rough. The micropylar collar was prominent and continuous and presented a conspicuous micropylar disc (diameter: 20.4 µm, thickness: 7.96 µm; Figure 1C) at its centre; and the micropyle (diameter: 2.4 µm) was observed in the centre of this disc (Figure 1D). The characteristics of the tubercles of specimens of *Psorophora (Janthinosoma) ferox* of three different regions are shown in the table 2.

## 4. Discussion

The measurements of the *Ps. ferox* eggs obtained here differed from those eggs from populations in Florida and Trinidad, which were described by Linley and Chadee (1990).

In general, the eggs from REBIO-PA were smaller, although some were within the size range observed in eggs from Florida. The size and number of tubercles also differed among the three locations (Table 1), which suggested intraspecific differences. The mean length and width of *Ps. ferox* eggs from Illinois (Horsfall et al., 1952) were lower than those of eggs from Florida, Trinidad, and REBIO-PA, but it was not possible to compare any of the other features of eggs from Illinois, since the study was based on light microscope observations. In comparison to *Psorophora varipes* (Coquillett 1904) (Horsfall et al., 1952) and *Ps. albigena* (Lutz 1908) (Pacheco et al., 2012), the *Ps. ferox* eggs also presented a longer cylinder-shaped tubercle at one extremity and were distinctly longer, thus characterising the eggs of *Ps. ferox* from those of other species.

Exochorion structures exhibit remarkable variation, and characterising these structures using SEM greatly enhances morphological studies that were previously limited to LM and facilitates the identification of Culicidae taxa from different species complexes (Forattini, 2002). Although Horsfall et al. (1952) devised a taxonomic key for several North American *Psorophora* species, the key was based on LM and could potentially be refined using information obtained by SEM. However, of the 17 *Psorophora* species (of 52 species) for which egg morphology has been reported, most descriptions are based on LM (Reinert, 2005), and of the 21 *Psorophora* species in Brazil, egg descriptions have only been provided for nine species, with only three species described using SEM: *Ps. cingulata* (Fabricius 1805), *Ps. albigena*, and *Ps. ferox*. This scarcity of information, along with the wide distribution of most species, emphasises the need for investigating the egg morphology of other species.

In the present study, the SEM-based description of *Ps. ferox* eggs from REBIO-PA and comparison to other *Ps. ferox* populations revealed few dissimilarities in the exochorion morphology. However, it was verified difference in the measurements of the eggs of Trinidad and Florida, when compared to Brazil in relation to the length, width and characteristics of the tubercles being the samples of Brazil the most disparate, thus contributing to inter- and intraspecific taxonomy of Culicidae species.

## Acknowledgements

We thank the Foundation for Supporting Research from the State of Rio de Janeiro-FAPERJ (contract 112.076/2012) and the National Council for Scientific and Technological Development-CNPq (301345/2013-9) for their financial support.

## References

- <jrn>Cupp, E.W., Zhang, D., Yue, X., Cupp, M.S., Guyer, C., Sprenger, T.R. and Unnasch, T.R., 2004. Identification of reptilian and amphibian blood meals from mosquitoes in an eastern equine encephalomyelitis virus focus in central Alabama. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 71, no. 3, pp. 272-276. [PMid:15381805](#).</jrn>
- <bok>Forattini, O., 2002. *Culicidologia médica*. vol. 2. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 860 p.</bok>
- <bok>Harbach, R.E., and KNIGHT, K.L., 1980. *Taxonomists' glossary of mosquito anatomy*. Marlton: Plexus Publishing. 415 p.</bok>
- <bok>Hayat, M.A., 1970. *Principles and techniques of electron microscopy: biological applications*. vol. I. New York: Van Nostrand Reinhold. 412 p.</bok>
- <jrn>Horsfall, W.R., Miles, R.C. and Sokatch, J.T., 1952. Eggs of floodwater mosquitoes. I: species of *Psorophora* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, vol. 44, no. 4, pp. 618-624. <http://dx.doi.org/10.1093/aesa/45.4.618>.</jrn>
- <bok> [[Q2: Q2]] Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal – IBDF, Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza – FBCN, 1981. *Plano de manejo, reserva biológica de Poço das Antas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura.</bok>
- <jrn>Kulasekera, V.L., Kramer, L., Nasci, R.S., Mostashari, F., Cherry, B., Trock, S.C. and Miller, J.R., 2001. West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. *Emerging Infectious Diseases*, vol. 7, no. 4, pp. 722-725. [PMid:11589172](#). <http://dx.doi.org/10.3201/eid0704.017421>.</jrn>

<conf>Linley, J.R., and CHADEE, D.D., 1990. Fine structure of the eggs of *Psorophora columbiae*, *Ps. cingulata* and *Ps. ferox* (Diptera: Culicidae). In [[Q3: Q3]]: Proceedings of the Entomological Society of Washington, 1990, vol. 92, p. 497-511.</conf>

<jrn>Lopes, O.S., Sacchetta, L.A., Francy, D.B., Jakob, W.L. and Calisher, C.H., 1981. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819). American Journal of Epidemiology, vol. 113, no. 2, pp. 122-125. [PMid:6110335](#).</jrn>

<jrn>Mitchell, C.J., Forattini, O.P. and Miller, B.R., 1986. Vector competence experiments with Rocio virus and three mosquito species from the epidemic zone in Brazil. Revista de Saude Publica, vol. 20, no. 3, pp. 171-177. [PMid:2880387](#). <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101986000300001>. </jrn>

<jrn>Orlandin, E., Santos, E.B., Piovesan, M., Favretto, M.A., Schneeberger, A.H., Souza, V.O., Muller, G.A. and Wagner, G., 2017. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) from crepuscular period in an Atlantic Forest area in Southern Brazil. Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia, vol. 77, no. 1, pp. 60-67. [PMid:27383000](#). <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.09815>. </jrn>

<jrn>Pacheco, J.B., Santos-Mallet, J.R., Guimarães, A.É., Costa, J.M. and Alencar, J., 2012. Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae). Micron, vol. 43, no. 2-3, pp. 418-421. [PMid:22154069](#). <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2011.10.014>. </jrn>

<jrn>Reinert, J.F., 2005. List of species described in the egg stage of tribe Aedini (Diptera: Culicidae) with their literature citations. Journal of the American Mosquito Control Association, vol. 21, pp. 252-262. [PMid:16252514](#). [http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[252:LOSDIT\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[252:LOSDIT]2.0.CO;2). </jrn>

<jrn>Reinert, J.F., 2009. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). European Mosquito Bulletin, vol. 27, pp. 68-76.</jrn>

<jrn>Reinert, J.F., 2010. Species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) with published illustrations and/or descriptions of eggs summary. European Mosquito Bulletin, vol. 28, pp. 182-186.</jrn>

<jrn>Turell, M.J., O'Guinn, M.L., Jones, J.W., Sardelis, M.R., Dohm, D.J., Watts, D.M., Fernandez, R., Travassos da Rosa, A., Guzman, H., Tesh, R., Rossi, C.A., Ludwig, V., Mangiafico, J.A., Kondig, J., Wasieloski JUNIOR, L.P., Pecor, J., Zyzak, M., Schoeler, G., Mores, C.N., Calampa, C., Lee, J.S. and Klein, T.A., 2005. Isolation of viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in the Amazon Basin region of Peru. Journal of Medical Entomology, vol. 42, no. 5, pp. 891-898. [PMid:16366001](#). <http://dx.doi.org/10.1093/jmedent/42.5.891>. </jrn>

Table 1. Dimensions of eggs of specimens of *Psorophora (Janthinosoma) ferox* of three different regions.

Specimen	Lenght $\mu\text{m}$		Widht $\mu\text{m}$		Lenght/Widht ratio	
	Mean $\pm$ SE	Range	Mean $\pm$ SE	Range	Mean $\pm$ SE	Range
<i>Ps ferox</i> (*Fl)	904.5 $\pm$ 13.7	845.5 - 963.6	250.2 $\pm$ 3.6	227.9 - 265.5	3.62 $\pm$ 0.03	3.44 - 3.75
<i>Ps ferox</i> (*Tr.)	918.3 $\pm$ 1.9	911.0 - 927.7	316.7 $\pm$ 1.7	311.1 - 322.2	2.90 $\pm$ 0.02	2.83 - 3.04
<i>Ps ferox</i> (Br)	816.8 $\pm$ 19.4	760.3 - 844.7	205.6 $\pm$ 5.5	190.3 - 216.7	3.97 $\pm$ 0.04	3.88 - 4.08

(Fl.): Vero Beach-Florida (EUA); (Tr.): Arena (Trinidad); (Br.) Poço das Antas Biological Reserve-Rio de Janeiro, Brazil.

\*From Linley and Chadee (1990).

Table 2. [[Q4: Q4]]Characteristics of the tubercles of specimens of *Psorophora (Janthinosoma) ferox* of three different regions.

Specimen	Small tubercles	Higher tubercles
----------	-----------------	------------------

	Amount	Mean ± SE	Range	Amount	Length	Width
<i>Ps ferox</i> (*Fl)	36	32.9 ± 1.7	17-51	36	13-25	5.5-7
<i>Ps ferox</i> (*Tr.)	28	27.5 ± 0.6	23-35	28	13-25	5.5-7
<i>Ps ferox</i> (Br)	26	16.3 ± 0.6	10-22	26	13-18	5.1- 6.2

(Fl.): Vero Beach-Florida (EUA); (Tr.): Arena (Trinidad); (Br.) Poço das Antas Biological Reserve-Rio de Janeiro, Brazil.

\*From Linley and Chadee (1990).

Figure 1. Egg of *Psorophora (Janthinosoma) ferox*. (A) ventral (upper) view; (B) typical ornamentation of the outer chorionic reticulum showing two types of tubercles; (C) anterior region of the egg showing micropylar apparatus, formed by a micropilar disc with a well evidenced frame; (D) anterior pole of egg, with micropyle. Mi, micropyle; MiC, micropylar collar; MiD, micropylar disc; OCT, outer chorionic tubercle.



## Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albipes* (Theobald, 1907) (Diptera: Culicidae)

CECILIA FERREIRA DE MELLO<sup>1,2</sup>, JACENIR R. SANTOS-MALLET<sup>3</sup>,  
RAQUEL M. GLEISER<sup>4</sup> & JERONIMO ALENCAR<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>*Diptera Laboratory, Oswaldo Cruz Institute (Fiocruz), Avenida Brasil 4365, Manginhos, 21040-360, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. E-mail: ceciliafnello@gmail.com*

<sup>2</sup>*Postgraduate Program in Animal Biology, Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, BR 465 Rd, Km 7, 23897-000, Seropédica, RJ, Brazil.*

<sup>3</sup>*Interdisciplinary Entomological Surveillance Laboratory of Diptera and Hemiptera, Oswaldo Cruz Institute (Fiocruz), Avenida Brasil 4365, Manginhos, 21040-360, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. E-mail: jacenir@ioc.fiocruz.br*

<sup>4</sup>*Centro de Relevamiento y Evaluación de Recursos Agrícolas y Naturales- Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas—Universidad Nacional de Córdoba, CONICET-UNC), Av. Valparaíso Sn (5016) and Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Vélez Sársfield 299, Córdoba, Argentina. E-mail: raquel.gleiser@unc.edu.ar*

<sup>5</sup>*Corresponding author. E-mail: jalencar@ioc.fiocruz.br*

### Abstract

The eggs of *Psorophora albipes* were studied using scanning electron microscopy (SEM) and described based on a morphometric analysis of the main structures observed. We used eggs from a female caught in the Poço das Antas Biological Reserve (REBIO-PA), located in the municipality of Silva Jardim, State of Rio de Janeiro, Brazil. The eggs have an elliptical outline with a mean length of  $538.67 \pm 69.89 \mu\text{m}$  and width of  $157.66 \pm 23.12 \mu\text{m}$  and a mean egg index of  $3.42 \pm 0.07 \mu\text{m}$ . The external coating of the eggs is regular, with elongated chorionic cells that vary in size, with a mean length of  $13.02 \mu\text{m}$  and mean width of  $6.47 \mu\text{m}$ . The cells mostly have a pentagonal shape, but some have an elliptical shape. The micropylar disc has a mean diameter of  $19.8 \mu\text{m}$ , it has small irregularities in its outline, excavations at the edge with the center slightly raised and a micropyle with a diameter of  $2.36 \mu\text{m}$ . Complete knowledge of the egg morphology of species through SEM is useful in correlating its fine structure with consistent non-discernible differences observed under a stereoscopic microscope, and can aid in species discrimination. SEM allows the construction of identification keys for mosquito eggs that should be useful for studies involving eggs recovered from ovitraps or debris/soil samples.

**Key words:** Aedini, egg, mosquito, *Psorophora albipes*, scanning electron microscopy

### Introduction

The genus *Psorophora* Robineau-Desvoidy currently has three subgenera: *Psorophora* Robineau-Desvoidy with ten species, *Janthinosoma* Lynch-Arribálzaga with 23 species and *Grabhamia* Theobald with 15 species. All representatives of this genus are restricted to the New World (Forattini, 2002). The eggs undergo diapause immediately before hatching. Females lay eggs in humid places liable to flooding, and are known to travel between habitats. They are active both day and night, and are ravenous hematophagous opportunists. Regarding epidemiological potential, some species of *Psorophora* have been found naturally infected with arboviruses such as Ilheus, Mayaro, Rocio, Western equine encephalitis and Venezuelan equine encephalitis viruses (Rosa-Freitas *et al.*, 1998). *Psorophora albipes* has been found naturally infected with some arboviruses, including Venezuelan encephalitis, Guama, Ilheus, Kairi, Mayaro, Una and Wyeomyia viruses (Karabatsos, 1978). This species is geographically distributed from Mexico to Argentina (Harbach, 2017).

Females of *Ps. (Jan.) amazonica* Cerqueira are morphologically similar to *Ps. (Jan.) albipes* (Theobald), the distinction is primarily based on the following characteristics: shorter proboscis, darker brown antennal pedicel,

lateral scutal scales with a brighter shade of yellow and narrower apical bands of yellow scales at the apices of the sterna (Cerqueira, 1960).

The external morphology of the eggs of mosquito species includes important taxonomic characteristics, as determined through light microscopy (Goeldi, 1905). It was only in 1972 that the first study on the eggs of culicid species was carried out by Matsuo & Kunou (1972), using scanning electron microscopy (SEM) to observe greater details.

According to Reinert (2010), only 33.3% of the 48 *Psorophora* species have had their eggs described and illustrated. Authors such as Goeldi (1905), Howard *et al.* (1912) and Mitchell (1907) have contributed to the observations and illustrations of the general appearance of some eggs of the genus *Psorophora* using optical microscopy. The first SEM work for the genus *Psorophora* was performed by Bosworth *et al.* (1983), who described and illustrated the eggs of *Ps. (Gra.) columbiae* (Dyar & Knab). Pacheco *et al.* (2012) illustrated the eggs of *Ps. (Jan.) albigena* (Peryassú) and compared these measurements with seven other *Psorophora* species. To our knowledge, the current study is the first report of the description of the eggs of *Ps. albipes* using SEM complemented by morphometric analysis of the main structures observed.

## Materials and methods

The eggs used in this study were obtained from a female caught in the Poço das Antas Biological Reserve (REBIO-PA), located in the central part of the municipality of Silva Jardim, State of Rio de Janeiro, Brazil. REBIO Poços das Antas is geographically located between parallels 22° 30' and 22° 33' S latitude and meridians 42° 15' and 42° 19' W longitude, with an approximate area of 52.26 km<sup>2</sup> and a perimeter of 44 km. Two engorged females of *Ps. albipes* were captured in a manual mouth aspirator (Castro aspirator). Subsequently, they were individually isolated in a 25 mm diameter, 50 mm high flat-bottomed glass tube containing a water-dampened cotton swab covered with filter paper on the bottom, which acted as a substrate for oviposition. The top of the glass tube was covered with a thin cloth (Bates & Roca-Garcia, 1945).

In the laboratory, a piece of cotton dampened in 20% sugar solution for feeding was placed on the cloth that covered the glass tube for feeding. The specimens were kept in a controlled experimental environment (greenhouse with controlled photoperiod), which was maintained at a temperature of 28±1°C and a relative humidity of 75 to 90%. The container was examined daily for oviposition. Forty-six eggs were obtained from one female, 24 of which were used for the study.

**Scanning electron microscopy.** Immediately after being laid, the 46 eggs were removed from the filter paper with a fine brush and fixed in 2.5% glutaraldehyde (GA). Twenty-two eggs were retained in GA for possible future studies, and 24 were post-fixed in a solution of 1% osmium tetroxide in 0.1 M sodium cacodylate buffer, pH 7.2, for the current study. After washing in the same solution, the eggs were dehydrated at increasing concentrations of ethanol (70, 80 and 90%), each concentration used once for 10 min each. Finally, eggs were dehydrated three times with 100% ethanol for 10 min each time. Samples were subsequently critical point dried using super dry CO<sub>2</sub> in Balzers apparatus (Tousimis Research Corporation Rockville, Maryland, USA). Subsequently, the eggs were mounted on the metallic supports of the microscope, coated with gold, and examined and photographed with a JEOL JSM 6390LV scanning electron microscope (Akishima, Tokyo, Japan), with magnifications of 270 to 1,900 times, emphasizing the anterior region of the eggs to see the details of the micropylar apparatus and chorion. Twenty-four eggs were morphometrically analyzed. Measurements were performed directly on the images obtained with the Semafore digital slow scan image recording system, version 3.1 (Insinooritoi misto J. Rimppi Oy, Finland) and analyzed using a SEM Control User Interface, version 8.24 (Jeol Technichs Ltd), attached to the microscope.

The morphometric measurements included total length, total width, thickness of the micropylar collar, micropyle size, thickness, circumference, diameter of the chorionic cells, and size of the tubercles (Table 1).

The identification of the females was carried out by the direct observation of morphological characteristics using a Zeiss stereoscopic microscope (Stemi SV6) and the dichotomous keys of Consoli & Lourenço de Oliveira (1994) and Forattini (2002).

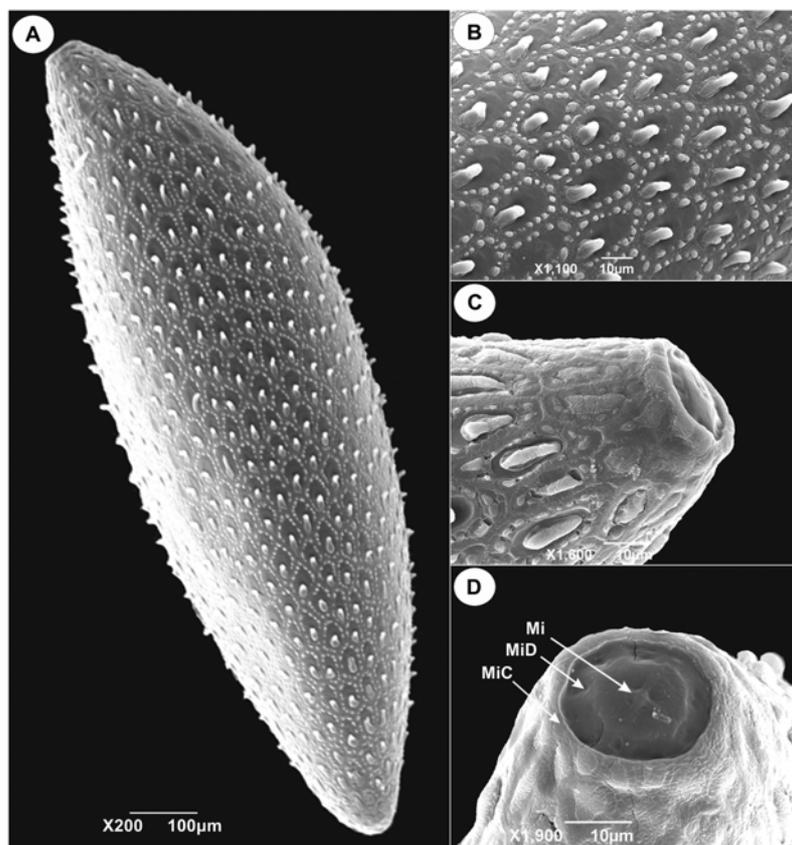
**Morphological terminology of the egg.** The eggs are described using the terminology of Harbach & Knight (1980). The genera and subgenera were abbreviated as proposed by Reinert (2009).

**TABLE 1.** Dimensions of eggs of specimens of *Psorophora albipes* (n = 24). Measurements in  $\mu\text{m}$ .

	Egg	Chorionic cell	Circular tubercles		Long tubercles dorsal surface	Micropylar apparatus		
			Larger	Smaller		Collar	Disc	Orifice
Length	538.67 $\pm$ 69.89	13.02	–	–	8.70 $\pm$ 2.96	–	–	–
Width	157.66 $\pm$ 23.12	6.47	2.21	0.341	2.76 $\pm$ 0.76	1.83	19.8	2.36
Ratio (l/w)	3.42 $\pm$ 0.07	–	–	–	–	–	–	–

## Results

In general, the eggs of *Ps. albipes* are fusiform and black in color, measuring on average  $538.67 \pm 69.89 \mu\text{m}$  in length and  $157.66 \pm 23.12 \mu\text{m}$  in width, with an index (length-to-breadth ratio) of  $3.42 \pm 0.07 \mu\text{m}$  (Fig. 1A). The external coating of the eggs is regular and covered with elongated chorionic cells that vary in size, with a mean length of  $13.02 \pm 2.27 \mu\text{m}$  and a mean width of  $6.47 \pm 0.90 \mu\text{m}$  in width, mostly with a pentagonal shape, but some cells have an elliptical shape. Small conical tubercles forming the periphery of the cells have diameters ranging from 2.21 to 0.341  $\mu\text{m}$ , in addition to an elongated, semi-erect, slightly bent cylindrical tubercle positioned in the posterior region of the cell, with mean length of  $8.70 \pm 2.96 \mu\text{m}$  and mean width of  $2.76 \pm 0.76 \mu\text{m}$  (Fig. 1B; Table 1). However, in the anterior and posterior regions of the egg, these tubercles are fully reclined in a horizontal position (Fig. 1C). The micropylar apparatus located in the anterior region of the egg has an obvious collar with a slightly rough surface and a thickness of 1.84  $\mu\text{m}$ . The micropylar disc has a diameter of approximately 19.8  $\mu\text{m}$  and has small irregularities and excavations at the edge, with a slightly raised center. The micropyle orifice of 2.36  $\mu\text{m}$  is partially concealed by a cross-shaped covering (Fig. 1D).



**FIGURE 1.** Egg of *Psorophora (Janthinosoma) albipes*. A, ventral (upper) view; B, typical ornamentation of the outer chorionic reticulum showing two types of tubercles; C, anterior region of the egg showing the micropylar apparatus, formed by a micropylar disc with a distinct frame; D, anterior pole of the egg, with the micropyle. Mi, micropyle; MiC, micropylar collar; MiD, micropylar disc.

## Discussion

The external morphology of mosquitoes has been studied at various developmental stages and due to the ease of this methodology it provides a low-cost preferential method for species identification. The external morphology of the eggs has typically been studied by light microscopy, and the use of SEM, which allows the observation of more morphological details, started only a few decades ago (1968). The SEM images of the egg exochorion have been an excellent resource for comparison between species. The ornamentation of the exochorion includes significant differences, mainly regarding the presence of tubercles in the chorionic cells, thus allowing a distinction between various culicid species (Alencar *et al.*, 2003, 2005; Mello *et al.*, 2014; dos Santos-Mallet *et al.*, 2009, 2010) and contributing to the identification of the representatives of mosquito species belonging to different complexes (Forattini, 2002).

The general appearance of the exochorion of *Ps. albipes* was consistent with the descriptions of species of the other subgenera of *Psorophora*. They had elongated chorionic cells, mostly with pentagonal or hexagonal shapes, some with an elliptical shape, and the peripheral area was formed by circular tubercles. The cells of the exochorion of *Ps. albipes* eggs also include an elongated slightly bent or reclining cylindrical tubercle.

According to Linley & Chadee (1990), *Ps. columbiae* eggs are elongated with curves resembling the banana fruit, with a dorsal curvature greater than the ventral one, and elongated chorionic cells with a large number of peripheral tubercles and a single large elongated tubercle inclined to the anterior angle. The dorsal, lateral and ventral sides of the chorion have very similar surfaces, and chorionic cells have mostly a hexagonal and occasionally pentagonal structure, with a very distinct micropylar collar. On the other hand, the eggs of *Ps. albipes* are fusiform, and most of the chorionic cells had a pentagonal shape, with some of them having an elliptical shape.

The presence of a cone-shaped tubercle at one end of the chorionic cell was reported by Pacheco *et al.* (2012) for the eggs of *Ps. albigena*, but this was not reported by Horsfall *et al.* (1952) for the eggs of *Ps. (Jan.) varipes* (Coquillett), a species long considered to be synonymous with *Ps. albigena*. In the current study, it was possible to observe this type of tubercle in *Ps. albipes*. In addition, Pacheco *et al.* (2012) reported that the micropylar disc presented a small formation called a micropyle monticule. On the other hand, *Ps. albipes* differs considerably in the morphology of the micropylar disc, which is cross-shaped.

We may have detected less intraspecific variability of egg morphology or ultrastructure than is present in the overall population because all eggs examined in this study were obtained from one female, which was due to difficulties in breeding and obtaining eggs in captivity. However, a single female may lay eggs with different endochorionic characteristics, as described by Bosworth *et al.* (1983) for the *Ps. (Gra.) confinnis* complex. Furthermore, eggs from other species, such as *Ae. scapularis* (Rondoni), have not shown significant morphological differences between populations that are geographically and bioclimatically distinct (dos Santos-Mallet *et al.*, 2010), suggesting it is a stable/conserved species characteristic.

Complete knowledge of the egg morphology of each species through SEM is useful in correlating its fine structure with consistent non-discernible differences under the stereoscopic microscope. Knowledge of the egg morphology of each species will allow species identification, which should be especially useful for studies involving eggs recovered from ovitraps or debris/soil samples.

## Acknowledgements

We would like to thank the Electron Microscopy Platform of the Instituto Oswaldo Cruz for allowing us to use of the scanning electron microscope. The authors thank Gustavo Luna Peixoto, head of the conservation unit, Poço das Antas Biological Reserve (REBIO-PA), for allowing us to use their facilities for conducting the current study. This work was supported by the Research Support Foundation of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ, grant numbers 26/010.001630/2014 and E-26/202.819/2015) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, grant number 1539342). We are thankful for comments and suggestions from anonymous reviewers that helped improve an earlier version of this article.

## References

- Alencar, J., Guimarães, A.E., Gil-Santana, H.R. & Santos-Mallet, J.R. (2005) Scanning electron microscopy of eggs of *Ochlerotatus (Protomacleaya) terreus* Walker. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21, 355–359.  
[https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)21\[355:SEMOEO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)21[355:SEMOEO]2.0.CO;2)
- Alencar, J., Guimarães, A.É., Mello, R.P., Lopes, C.M., Dégallier, N. & Santos-Mallet, J.R. (2003) Microscopia eletrônica de varredura de ovos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *Revista de Saúde Pública*, 37, 657–661.  
<https://doi.org/10.1590/S0034-89102003000500017>
- Bates, M. & Roca-Garcia, M. (1945) Laboratory studies of the Saimiri-Haemagogus cycle of Jungle Yellow Fever. *American Journal of Tropical Medicine*, 25, 203–216.  
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1945.s1-25.203>
- Bosworth, A.B., Meola, S.M. & Olson, J.K. (1983) The chorionic morphology of eggs of the *Psorophora confinnis* complex in the United States. I. Taxonomic considerations. *Mosquito systematics*, 15, 285–309.
- Cerqueira, N.L. (1960) Sobre uma n. sp. de *Janthinosoma* da Série Lutzi e a descrição do macho de *Psorophora (J.) circumflava* Cerqueira, 1943 (Diptera Culicidae). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Nova Série*, 26, 1–7, 3 Estamp.
- Consoli, R.A.G.B. & Lourenço de Oliveira, R. (1994) *Cadernos de Saúde Pública Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro. Available from: <http://books.scielo.org/id/th> (accessed 1 August 2017)
- dos Santos-Mallet, J.R., Gleiser, R.M., Alencar, J., Marques, W.D.A., Soares, J. & Marcondes, C.B. (2010) Scanning electron microscopy of the eggs of *Aedes scapularis* from Southern South America. *Journal of American Mosquito Control Association*, 26, 205–209.  
<https://doi.org/10.2987/09-5959.1>
- dos Santos-Mallet, J.R., Gleiser, R.M., Alencar, J., Marques, W.D.A., Sarmento, J.S., Müller, G.A. & Marcondes, C.B. (2009) Scanning electron microscopy of the egg of *Ochlerotatus albifasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 46, 980–985.  
<https://doi.org/10.1603/033.046.0502>
- Forattini, O.P. (2002) *Culicidologia Médica. Vol. 2. Identificação, Biologia, Epidemiologia*. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 864 pp.
- Goeldi, E.A. (1905) Os mosquitos no Pará. Reunião de quatro trabalhos sobre os mosquitos indígenas, principalmente as espécies que molesta o homem. *Memórias do Museu Goeldi (Museu Paraense) de História Natural e Ethnographia. IV. C. Wiegandt, Pará*, 154 pp., 21 pls.
- Harbach, R. & Knight, R.E. (1980) *Taxonomists' glossary of mosquito anatomy*. Plexus Publishing, Inc., Marlton, New Jersey, xi + 413 pp.
- Harbach, R.E. (2017) Mosquito Taxonomic Inventory. Family Culicidae Meigen, 1818. Available from: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/family-culicidae-meigen-1818> (accessed 31 May 2017)
- Horsfall, W.R., Miles, R.C. & Sokatch, J.T. (1952) Eggs of floodwater mosquitoes. I. Species of *Psorophora* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 45, 618–624.  
<https://doi.org/10.1093/aesa/45.4.618>
- Howard, L.O., Dyar, H.G. & Knab, F. (1913) *The mosquitoes of North and Central America and the West Indies*. Vol. 1. Carnegie Institution of Washington Publication No. 159 [for 1912]. The Lord Baltimore Press, Baltimore, vii + 520 pp.
- Karabatsos, N. (1978) Supplement to International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27, 372–440.  
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1978.27.372>
- Linley, J.R. & Chadee, D.D. (1990) Fine structure of the eggs of *Psorophora columbiae*, *Ps. cingulata* and *Ps. ferox* (Diptera: Culicidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 92, 497–511.
- Matsuo, K.Y.Y. & Kunou, I. (1972) The scanning electron microscopy of mosquitoes I. The egg surfaces of five species of *Aedes* and *Armigeres subalbatus*. *Journal of Kyoto Prefectural University of Medicine*, 81, 358–63.
- Mello, C.F., dos Santos-Mallet, J.R., Morone, F., Guimarães, A.É., Marcondes, C.B. & Alencar, J. (2014) Ultrastructure of the egg of *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas, 1907) (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 39, 219–221.  
<https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2014.12090.x>
- Mitchell, E.G. (1907) *Mosquito life; the habits and life cycles of the known mosquitoes of the United States; methods for their control; and keys for easy identification of the species in their various stages. An account based on the investigations of the late James William Dupree, M. D., surgeon-general of Louisiana, and upon original observations by the writer*. G. P. Putnam's sons, New York, xxii + 281 pp., 9 pls.
- Pacheco, J.B., Santos-Mallet, J.R., Guimarães, A.E., Costa, J.M. & Alencar, J. (2012) Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae). *Micron*, 43, 418–421.  
<https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.10.014>
- Reinert, J.F. (2009) List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). *European Mosquito Bulletin*, 27, 68–76.
- Reinert, J.F. (2010) Species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) with published illustrations and/or descriptions of eggs—Summary. *European Mosquito Bulletin*, 28, 182–186.
- Rosa-Freitas, M.G., Lourenço-de-Oliveira, R., De Carvalho-Pinto, C.J., Flores-Mendoza, C. & Silva-do-Nascimento, T.F. (1998) Anopheline species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to malaria transmission. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, 651–655.  
<https://doi.org/10.1590/S0074-02761998000500016>

## Variation in Mitochondrial *Cytochrome c Oxidase I* DNA Can Successfully Identify *Culex (Melanoconion) pedroi* (Diptera: Culicidae) and *Culex (Melanoconion) ribeirensis* (Diptera: Culicidae)

A. S. Araki,<sup>1</sup> D. A. Maia,<sup>2</sup> H. R. Gil-Santana,<sup>2</sup> C. F. de Mello,<sup>2,3</sup> A. de J. Martins,<sup>4</sup> and J. Alencar<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil (saoriaraki13@gmail.com),

<sup>2</sup>Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil (dani.aguiar.maia@gmail.com; helciogil@ioc.fiocruz.br; ceciliafmello@gmail.com; jalencar@ioc.fiocruz.br), <sup>3</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brazil, <sup>4</sup>Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil (ademirjr@ioc.fiocruz.br), and <sup>5</sup>Corresponding author, e-mail: jalencar@ioc.fiocruz.br

Subject Editor: Harry Savage

Received 14 June 2016; Editorial decision 24 October 2016

### Abstract

*Culex (Melanoconion) pedroi* Sirivanakarn & Belkin 1980 and *Culex (Melanoconion) ribeirensis* Forattini & Sallum 1985 are two morphologically very similar species of the *Pedroi* subgroup of mosquitoes in the *Spissipes* section of the subgenus *Melanoconion* of the genus *Culex* L. 1758. We carried out an analysis of the mitochondrial *cytochrome c oxidase I* (*COI*) DNA variation between these two species. The recent observation of sympatric coexistence in a forested area of Rio de Janeiro State (Brazil) triggered the need to validate these two species previously identified based on morphology. We concluded that the *COI* is a useful tool for identification of *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis*.

**Key words:** *cytochrome c oxidase I*, taxonomy, phylogeny, *Culex pedroi*, *Culex ribeirensis*

The subgenus *Melanoconion* Theobald, 1903 of the genus *Culex* L. 1758 is currently divided into two sections: *Melanoconion* and *Spissipes* (Forattini 2002). The Section *Spissipes* contains 23 recognized species distributed among eight groups and three subgroups (Sallum and Forattini 1996, Sallum et al. 1997, Navarro and Weaver 2004). The traditional taxonomic revisions of *Culex (Melanoconion)* (Sirivanakarn 1983, Sallum and Forattini 1996) and the molecular phylogeny of the internal transcribed spacer region two (ITS2) of the ribosomal DNA (Navarro and Weaver 2004) have shown that the *Pedroi* subgroup is valid. This group consists of five species that includes *Culex (Melanoconion) pedroi* Sirivanakarn & Belkin 1980 and *Culex (Melanoconion) ribeirensis* Forattini & Sallum 1985, two species that are very similar at the morphological level. The adults can be separated by the entirely dark aspect of the tarsi in *Cx. ribeirensis*, contrasting with white rings at the joints of tarsomeres 1–4 and a white tarsomere 5 in *Cx. pedroi* (Sirivanakarn and Belkin 1980, Forattini and Sallum 1985). In general, characteristics on the male genitalia are useful to separate closely related species of Culicidae. In the subgenus *Melanoconion*, this premise is particularly relevant, as many species can be identified only or

mainly based on male genitalia structures (Pecor et al. 1992). However, no diagnostic features of the male genitalia were observed between *Cx. ribeirensis* and *Cx. pedroi* (Sallum and Forattini 1996, Forattini 2002).

*Culex pedroi* has a widespread geographic distribution across 14 American countries, including Brazil. On the other hand, *Cx. ribeirensis* is more restricted to the Tropical Atlantic Forest Systems of the Southern Brazil Region (Forattini and Sallum 1985). During a survey of a mosquito population in a forested area of Rio de Janeiro State, several specimens of *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis* were collected. Notably, across multiple sampling sites and over three years of sample collection, specimens of both species were often collected together in many sites.

The morphological similarity between *Cx. ribeirensis* and *Cx. pedroi*, including the indistinguishable male genitalia, and the sympatry observed in Rio de Janeiro State necessitated the investigation of biological diversity through DNA barcoding. This method has facilitated the identification and discovery of new species among many taxa of insects and the validation of species that were previously identified based on morphology (Hebert et al. 2003a,b).

	11122	2222223333	3333333333	4444444445	5555555555	5666
	123623301	2377890001	2234444577	0002567890	0122334445	6155
	1021473957	9818982476	5840367836	0131765400	8469252780	2928
<i>Cx. ribeirensis04</i>	ACGACACTCG	GTTTCTAAGA	TTACTCCGAT	ATACTATAACC	GATTACTTCT	ATTC
<i>Cx. ribeirensis07</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis08</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis09</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C..T
<i>Cx. ribeirensis10</i>	...T.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis13</i>	.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. ribeirensis14</i>	..A.....	.....	.....	.....	.....	C...
<i>Cx. pedroi02</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTAGA	CCTTA.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi03</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi04</i>	TT.CTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTT.ATA	TA.T
<i>Cx. pedroi05</i>	TTACTTTCTA	.ACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi06</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGAG	CATTCTTA.A	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi07</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTAGA	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi11</i>	TTACTTTCTA	AAC.TCTGA.	CATTCTTA.A	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi12</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi13</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGAG	CATTCTTAGA	CCTTG.CTTT	TTCCTTCATA	TACT
<i>Cx. pedroi14</i>	TTACTTTCTA	AACCTCTGA.	CATTCTTATA	CCTTGGCTTT	TTCCTTCATA	TACT

**Fig. 1.** Alignment showing parsimony informative sites from a fragment of the 658 bp of the *cytochrome c oxidase* subunit I gene between *Culex (Mel.) pedroi* and *Cx. (Mel.) ribeirensis*. Fixed differences are shown in yellow.

## Materials and Methods

### Sample Collection and Morphological Identification

Mosquito collections were performed in Poço das Antas Natural Reserve (ReBioPA) situated in the municipality of Silva Jardim (Rio de Janeiro state), located at 22° 25'52.1" S, 44° 37'16.7" W. The ReBioPA, demarcated in 1914, covers an area of 5,000 ha, encompassing several areas that were previously orchards, houses, and pastures. Mosquitoes were captured from June of 2014 to June of 2015. We used two types of light traps: automatic CDC with CO<sub>2</sub> traps and Shannon traps. Species identification was performed by direct observation of morphological characters by using a stereomicroscope (ZEISS Stemi SV6) and optical microscope (NIKON E200) examination of the male genitalia mounted on microscope slides. Species identifications were based on Sirivanakarn and Belkin (1980), Forattini and Sallum (1985), Sallum and Forattini (1996), and Forattini (2002). Voucher specimens were deposited in the Entomological Collection of the Oswaldo Cruz Institute, under the title "Atlantic Forest Collection."

### Molecular Analysis

Genomic DNA extractions from 10 *Cx. pedroi* and 7 *Cx. ribeirensis* specimens were carried out with ZR Tissue & Insect DNA MiniPrep kit (Zymo Research). The PCRs using the LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') primers (Folmer et al. 1994) and Go Taq Green Master Mix (Promega, Madison, WI) were performed according to Pinto et al. (2015). The amplified fragments were purified using Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Life Sciences) and posterior sequencing in both directions with the Big Dye Terminator Kit in ABI3730 automated sequencer (PE Applied Biosystems) at Fundação Oswaldo Cruz (PDTIS/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil. Forward and reverse sequences for each specimen were aligned using ClustalW (Thompson et al. 1994) and edited with Bioedit 7.2.5 (Hall 1999). A single consensus sequence from the 658 bp was obtained for each specimen (accession numbers: KX379613–KX379629). Primary species delimitation was estimated using Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) software (Puillandre et al. 2012) by identification of a potential barcode gap. We used previously published values of prior intraspecific divergence between 1% and 2.5% to avoid

overestimating or underestimating the number of species, similar to the method of Pinto et al (2015). For construction of a phylogenetic tree, we used previously published sequences from NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) and Boldsystems (<http://www.boldsystems.org/>) and carried out a neighbor-joining (NJ) analysis with the Kimura-two-parameters (K2P) method (Kimura 1980) in MEGA 6.0 (Tamura et al. 2013). We utilized a smaller region of the 651 bp for this analysis because of the variable length of sequences available on public databases. The sequences added for constructing the phylogenetic tree were as follows: for subgenus *Melanoconion* Theobald, *Melanoconion* Section (Sirivanakarn, 1983): *Culex erraticus* (KM593032.1), *Culex lucifugus* (KM593027.1), *Culex serrati-marge* (KF671018.1), *Culex inhibitor* (JX259908.1), *Culex conspirator* (KM593050.1 and KM593053.1), and *Culex educator* (KM593042.1); and for Spissipes section: *Culex taeniopus* (JX259916.1) (Gibson et al. 2012, Linton et al. 2013, Rozo-Lopez and Mingual 2015).

## Results and Discussion

The fragments of 658 bp of mitochondrial *cytochrome c oxidase* I (COI) DNA obtained from *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis* were full-length barcode sequences, with no evidence of insertions, deletions, or stop codons, indicating the absence of COI nuclear pseudogenes of mitochondrial origin. The mean K2P diversity within species was 0.4% and the mean divergence between species was 10-fold higher (4.2%). The alignment (Fig. 1) shows 42 fixed differences from a total of 54 parsimony informative sites. The coefficient estimated (0.910) clearly indicates a high level of differentiation between sequences of the two species. The partition of the data by Barcode Gap Discovery method by using a range of 0.001–0.1 for prior intraspecific divergence (P) shows eight initial partitions supporting two well-defined groups in our data. The NJ tree built using the K2P distances is shown in Fig. 2. The phylogenetic relationship observed between *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis* supports previous morphologic studies (reviewed by Harbach 2011), and the correlation can be observed in species that belong to the *Melanoconion* section. Only the sequence of *Cx. taeniopus* belonging to the Spissipes section was clustered with the *Melanoconion* section sequences.

The systematics of the Spissipes section was assessed using the ITS2 region of nuclear ribosomal DNA (Navarro and Weaver

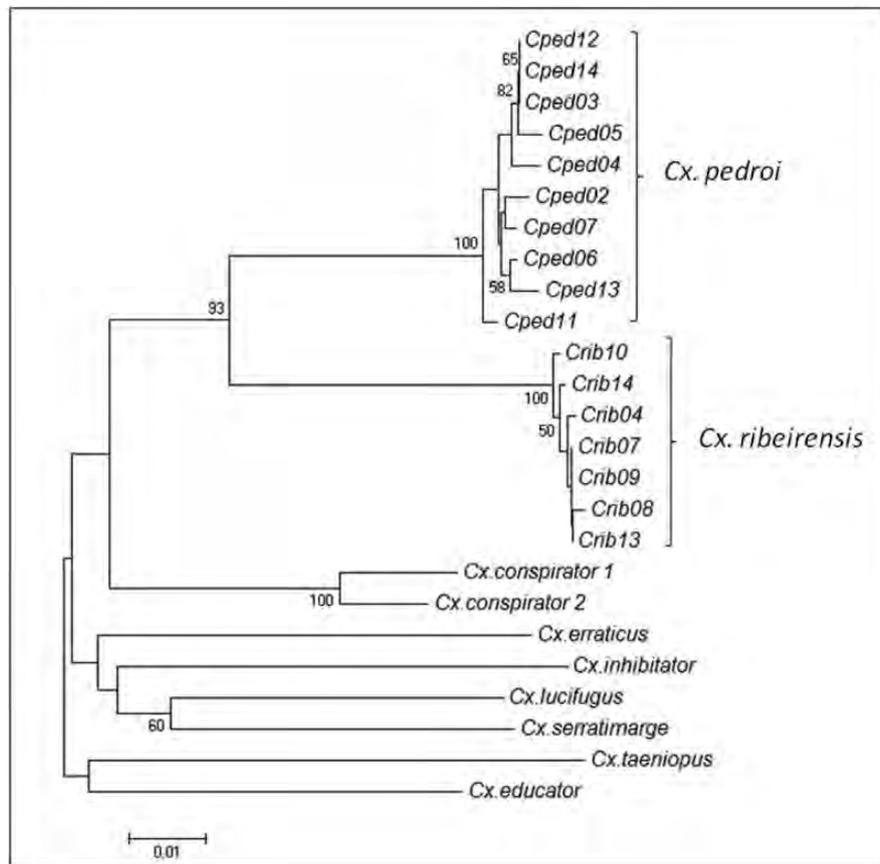


Fig. 2. Neighbor-joining tree of *COI* sequence divergences (K2P). Only bootstrap values >50 are shown.

2004). Three species of the Pedroi subgroup (*Cx. pedroi*, *Cx. ribeirensis*, and *Cx. adamesi*) were observed constituting a monophyletic sister group. A similar result was observed in our analysis of the *COI* mitochondrial DNA. Phylogenetic evidence using ITS2 also suggests the existence of a *Cx. pedroi*-like form that may occur in Venezuela and Peru (Navarro and Weaver 2004). Additional studies using *COI* mitochondrial DNA would be interesting, as they may corroborate the suggested new form detected using nuclear marker.

Some studies using *COI* indicate the limitations of this approach when used with closely related species of mosquitoes (e.g., Kumar et al. 2007, Wang et al. 2012, Laurito et al. 2013). However, our results with *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis* do not appear to have been exposed to this limitation. Additionally, the correspondence between morphological species and DNA barcode clusters has also been ascertained in several other species of mosquitoes (e.g., Kumar et al. 2007, Wang et al. 2012, Linton et al. 2013, Ashfaq et al. 2014, Chan et al. 2014, Rozo-Lopez and Mingual 2015), and in other insects such as butterflies and sandflies (e.g., Gutiérrez et al. 2014, Hebert et al. 2004, Pinto et al. 2015). Thus, the *COI* was shown to be a useful molecular marker for the identification of *Cx. pedroi* and *Cx. ribeirensis*, and therefore, supports the morphology-based identification systems of Sallum and Forattini (1996).

## Acknowledgments

We are grateful to Israel Pinto for advice on analysis and Rafaela Vieira Bruno for laboratory supplies. This study was financially supported by Programa Nacional de Pós-Doutorado-Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de

Nível Superior-PNPD-Capes, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro-FAPERJ (contract 112.076/2012), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (301345/2013-9).

## References Cited

- Ashfaq, M., P.D.N. Hebert, J. H. Mirza, A. M. Khan, Y. Zafar, and M. S. Mirza. 2014. Analyzing mosquito (Diptera: Culicidae) diversity in Pakistan by DNA barcoding. *PLoS ONE* 9: e97268.
- Chan, A., L. P. Chiang, H. C. Hapuarachchi, C. H. Tan, S. C. Pang, R. Lee, K. S. Lee, L. C. Ng, and S. G. Lam-Phua. 2014. DNA barcoding: Complementing morphological identification of mosquito species in Singapore. *Parasit. Vectors* 7: 569.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3: 294–299.
- Forattini, O. P., and M.A.M. Sallum. 1985. A new species of *Culex* (*Melanoconion*) from Southern Brazil (Diptera: Culicidae). *Rev. Saúde Pública*. 19: 171–182.
- Forattini, O. P. 2002. *Culicidologia Médica*, p. 864. Vol. 2. EDUSP, São Paulo.
- Gibson, C. M., R. H. Kao, K. K. Blevins, and P. D. Travers. 2012. Integrative taxonomy for continental-scale terrestrial insect observations. *PLoS ONE* 7: e37528.
- Gutiérrez, M.A.C., R. J. Vivero, I. D. Vélez, C. H. Porter, and S. Uribe. 2014. DNA barcoding for the identification of sand fly species (Diptera, Phlebotominae) in Colombia. *PLoS ONE* 9: e85496.
- Harbach, R. E. 2011. Classification within the cosmopolitan genus *Culex* (Diptera: Culicidae): The foundation for molecular systematics and phylogenetic research. *Acta Tropica*. 120: 1–14.

- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95–98.
- Hebert, P.D.N., A. Cywinska, and S. L. Ball. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: 313–321.
- Hebert P.D.N., S. Ratnasingham, and J. R. deWaard. 2003b. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: S96–S99.
- Hebert, P.D.N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen, and W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 14812–14817.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111–120.
- Kumar, N. P., A. R. Rajavel, R. Natarajan, and P. Jambulingam. 2007. DNA barcodes can distinguish species of Indian mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 44: 7.
- Laurito, M., T.M.P. de Oliveira, W. R. Almirón, and M.A.M. Sallum. 2013. COI barcode versus morphological identification of *Culex (Culex)* (Diptera: Culicidae) species: A case study using samples from Argentina and Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108: 110–122.
- Linton, Y. M., J. E. Pecor, C. H. Porter, L. B. Mitchell, A. Garzón-Moreno, D. H. Foley, D. B. Pecor, and R. C. Wilkerson. 2013. Mosquitoes of eastern Amazonian Ecuador: Biodiversity, bionomics and barcodes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108: 100–109.
- Navarro, J. C., and S. C. Weaver. 2004. Molecular phylogeny of the Vomerifer and Pedroi Groups in the Spissipes Section of the subgenus *Culex (Melanoconion)*. *J. Med. Entomol.* 41: 575–581.
- Pecor, J. E., V. L. Mallampalli, R. E. Harbach, and E. L. Peyton. 1992. Catalog and illustrated review of the subgenus *Melanoconion* of *Culex* (Diptera: Culicidae). *Contrib. Am. Entomol. Inst.* 27: 1–228.
- Pinto, I., B. D. deS, A.A.F. dasChagas, A. L. Rodrigues, H. R. Ferreira, R. V. Rezende, A. Bruno, J. D. Falqueto, E.A.B. Andrade-Filho, P.H.F. Galati, et al. 2015. DNA barcoding of neotropical sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): Species identification and discovery within Brazil. *PLoS ONE* 10: e0140636.
- Puillandre, N., A. Lambert, S. Brouillet, S. and G. Achaz. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Mol. Ecol.* 21: 1864–1877.
- Rozo-Lopez, P., and X. Minguál. 2015. Mosquito species (Diptera, Culicidae) in three ecosystems from the Colombian Andes: Identification through DNA barcoding and adult morphology. *Zookeys* 513: 39–64.
- Sallum, M.A.M., and O. P. Forattini. 1996. Revision of the Spissipes Section of *Culex (Melanoconion)* (Diptera: Culicidae). *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 12: 517–600.
- Sallum, M.A.M., R.S.G. Hutchings, and R.L.M. Ferreira. 1997. *Culex gnomatos*: A new species of the Spissipes Section of *Culex (Melanoconion)* (Diptera: Culicidae) from de Amazon Region. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 92: 215–219.
- Sirivanakarn, S., and J. N. Belkin. 1980. The identity of *Culex (Melanoconion) taeniopus* Dyar and Knab and related species with notes on the synonymy and description of a new species (Diptera, Culicidae). *Mosq. Syst* 12: 7–24.
- Sirivanakarn, S. 1983. A review of the systematic and a proposed scheme of internal classification of the New World subgenus *Melanoconion* of *Culex* (Diptera, Culicidae). *Mosq. Syst.* 14: 265–333.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725–2729.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.
- Wang, G., C. Li, X. Guo, D. Xing, Y. Dong, Z. Wang, Y. Zhang, M. Liu, Z. Zheng, H. Zhang, et al. 2012. Identification the main mosquito species in China based on DNA barcoding. *PLoS ONE* 7: e47051.

## Short Communication

# Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil

**Jeronimo Alencar<sup>[1]</sup>, Cecilia Ferreira de Mello<sup>[1],[2]</sup>, Leandro Silva Barbosa<sup>[3]</sup>,  
Hélcio Reinaldo Gil-Santana<sup>[1]</sup>, Daniele de Aguiar Maia<sup>[1]</sup>,  
Carlos Brisola Marcondes<sup>[4]</sup> and Júlia dos Santos Silva<sup>[5]</sup>**

[1]. Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

[2]. Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. [3]. Departamento de Entomologia, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

[4]. Laboratório de Entomologia Médica, Departamento de Microbiologia Imunologia e Parasitologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

[5]. Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

### Abstract

**Introduction:** Environmental caused by human activities have led to changes in mosquito vector populations, and sylvatic species have adapted to breeding in urban areas. **Methods:** Mosquitoes were collected using ovitraps in three sampling sites in the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Results:** We collected 2,162 Culicidae specimens. *Haemagogus janthinomys* and *Haemagogus leucocelaenus*, both sylvatic yellow fever virus vectors, were the most common species found. **Conclusion:** There is a potential for the transmission of arboviruses in and around these natural reserves. Therefore, it is necessary to maintain entomological surveillance programs in the region.

**Keywords:** *Haemagogus*. Yellow fever. Ovitrap.

Understanding the biodiversity of mosquito species in the Atlantic Forest and their response to both human disturbance and forest recovery is important for predicting changes in mosquito populations, especially those commonly associated with sylvatic habitats. Although the mosquito fauna of the Atlantic Forest is diverse and includes potential vectors for yellow fever virus as well as other arboviruses, from an epidemiological point of view, the *Haemagogus* and *Sabethes* spp. are the most important in the transmission of yellow fever virus because they are the primary vectors in the forest areas of the Americas<sup>(1)</sup>. *Haemagogus* spp., in particular, are sylvatic, active during the warmest hours of the day, and found primarily in the tree canopy of tropical forests. Nonetheless, they will take blood meals at ground level in deforested areas and some of these species also show a tendency toward domiciliation<sup>(2)</sup>. However, behavioral tendencies may vary across regions and seasons. Therefore, we collected mosquito eggs in order to evaluate the mosquito diversity in environmental preservation areas in the Southeastern Brazilian State of Rio de Janeiro.

Mosquito eggs were collected from the Itatiaia National Park [*Parque Nacional de Itatiaia* (PARNA-Itatiaia)], the Poço das Antas Biological Reserve [*Reserva Biológica de Poço das Antas* (RBioPA)], and the Bom Retiro Private Natural Heritage Reserve [*Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro* (RPPNBR)] (**Figure 1**). PARNA-Itatiaia, situated 176km from the City of Rio de Janeiro, was the national reserve in Brazil. It covers an area of 28,155ha and is heavily affected by anthropogenic activities, including housing development and palm cabbage harvesting. The reserve includes two ecologically distinct areas between 400 and 2,791m above sea level: one with rock formations at higher elevations and one lower with numerous waterfalls and small lakes. Rainfall in PARNA-Itatiaia is heavy and occurs mainly in the summer. Annual precipitation averages 2,400mm with the heaviest rainfall in January (27 rainy days and 388mm of rainfall on average). The collection site was located at 22°25'52.1" S and 44°37'16.7" W.

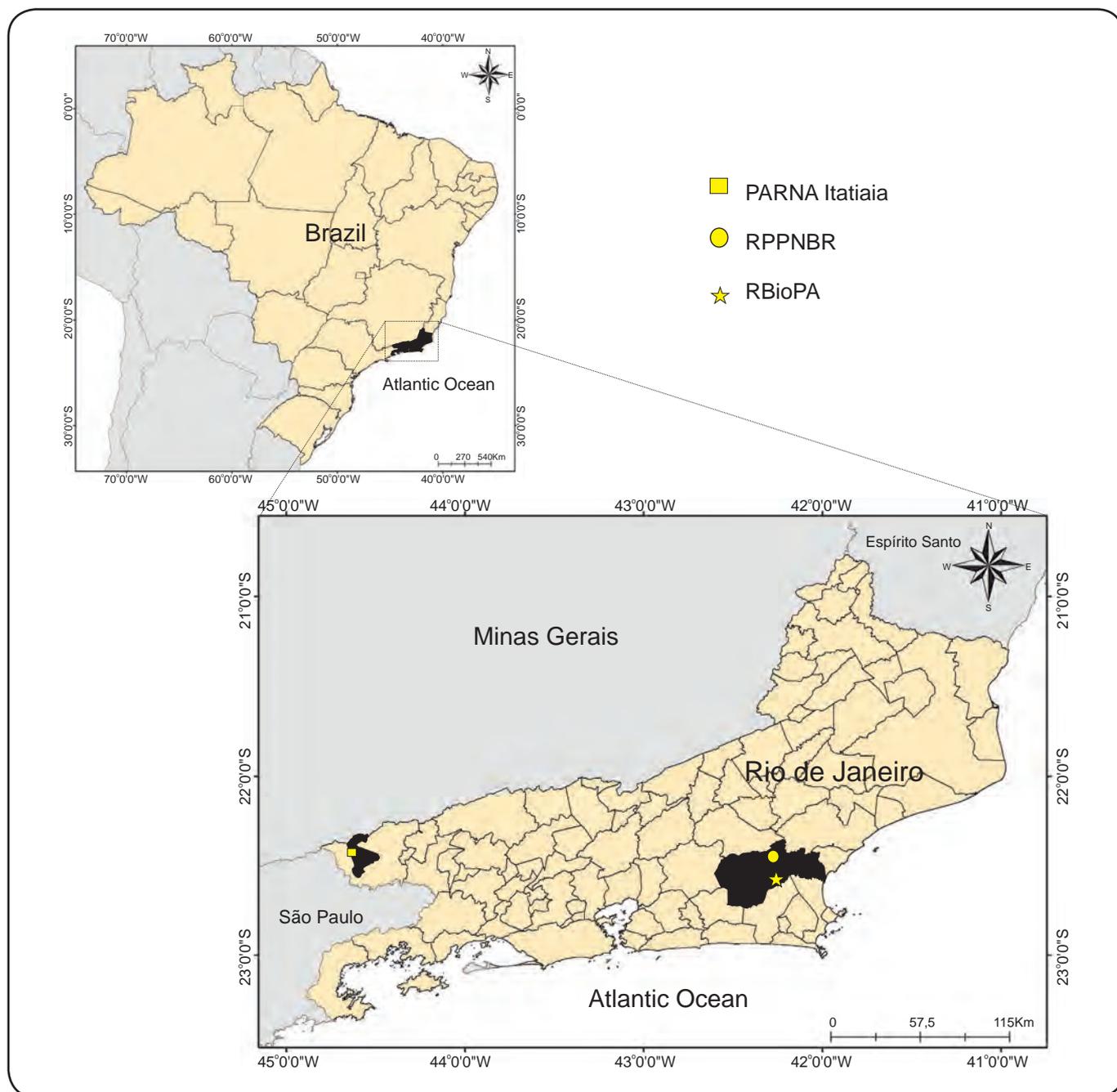
RBioPA is situated in the municipality of Silva Jardim and encompasses an area of 5,000ha. Constituted in 1914, the reserve includes several areas that were previously orchards, houses, or pastures; however, the forest has gradually recovered, and primary forest fragments with original vegetation can be found on the alluvial plains and in the lower areas of the reservation. The climate is hot and wet with most rainfall occurring in the summer (total rainfall = 1,000mm concentrated between October

**Corresponding author:** Dr. Jeronimo Alencar.

**e-mail:**

**Received** 17 January 2016

**Accepted** 20 April 2016



**FIGURE 1 - The location of each study area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. PARN-Itatiaia: Parque Nacional de Itatiaia; RBioPA: Reserva Biológica de Poço das Antas; RPPNBR: Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro.**

and April). Maximum temperatures range from 30-32°C and minimum temperatures are always above 18°C<sup>(3)</sup>. The collection site was at 22°33'11.4" S and 42°17'49.8" W.

RPPNBR is situated 140km from the City of Rio de Janeiro. It covers an area of approximately 556ha and is almost completely covered by primary Atlantic Forest. The region is heavily influenced by intense solar radiation and Atlantic Ocean humidity producing a tropical wet climate<sup>(4)</sup>. The collection site was at 22°27'15.3" S and 42°18'02.4" W.

Mosquito egg sampling was conducted over 5 months (December 2014 to April 2015) using ovitraps consisting of a 1L black bucket installed 2-3m from the soil and containing water, leaf litter, and four wood plates. These plates were collected twice a month and examined in the laboratory. Plates with mosquito eggs were immersed in transparent trays with Milli-Q® water and maintained at 28 ± 1°C. Emerged adults were identified<sup>(5)</sup> by checking original descriptions and redescrptions when necessary.

We calculated the index of species abundance for each species and then standardized this on a scale from zero to one [standardized index of species abundance (SISA)] as described by Roberts & Hsi according to<sup>(6)</sup>. This index is determined by the number of specimens collected and the distribution pattern across samples. Species dominance categories were as eudominant (>10%), dominant (<10% and >5%), subdominant (<5% and >2%), recessive (<2% and >1%), and rare (<1%)<sup>(7)</sup>.

We also compared the mosquito diversity between sites with the Shannon-Wiener Diversity Index ( $H' = \sum p_i \ln p_i$ , where  $p_i$  is the proportional abundance of species  $i$  in the collection) using the DivEs Species Diversity program (W.C. Rodrigues; LIZARO Soft). In addition, we calculated the species richness (S) and the Sørensen similarity index (SI). An SI > 0.50 was considered. Since collections were not conducted in April 2015 in PARNA-Itatiaia, all comparisons were restricted to the period from December 2014 to March 2015.

Between December 2014 and April 2015, 2,217 specimens from six mosquito species were collected. Since the studied areas were within the distribution of both *Haemagogus janthinomys* and *Haemagogus capricornii* spp. and because the females are very difficult to differentiate<sup>(2)</sup> and the only male was collected in RPPNBR, the females were only identified as *H. capricornii/janthinomys*. Five specimens could only be identified as *Wyeomyia* spp. (Table 1). In addition, *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon 1924) was the most abundant in all locations, followed by *H. capricornii/janthinomys* in RPPNBR and RBioPA, and by *Limatus durhamii* Theobald, 1901, in PARNA-Itatiaia (Table 1). *H. leucocelaenus* was the most dominant in all areas (Table 2). There was no significant difference in diversity among the localities (t-test,  $p > 0.05$ ), and all localities had a similar species richness (more than 50% similarity).

Two species were observed in RPPNBR, whereas three species were found and species richness was higher in PARNA-Itatiaia and RBioPA (Table 1). In RPPNBR and RBioPA, the population density was highest in December and April, respectively, and lowest in January. In PARNA-Itatiaia the population density was highest in March and lowest in February.

In PARNA-Itatiaia the species most frequently observed were *H. leucocelaenus* (82.7% in March 2015), *L. durhamii* (11.7% in March 2015), and *Aedes albopictus* (2.4% in August 2014). The least obtained species were *H. capricornii/janthinomys* (0.5% in January 2015), *Culex iridescens* (1.6%), and *Wyeomyia* sp. (0.9%).

In RPPNBR we collected only two mosquito species: *H. leucocelaenus* (> 98.7% in December 2014) and *H. capricornii/janthinomys* (0.6% in February 2015).

Of the three areas studied, the highest Shannon Diversity Index ( $H' = 0.37$ ) was found for the RBioPA sample site and the greatest species richness ( $S = 5$ ) was found for the PARNA-Itatiaia site. In addition, at the PARNA-Itatiaia collection site we found three epidemiologically important species: *H. leucocelaenus*, *H. janthinomys*, and *A. albopictus* (Table 1). The species diversity comparisons showed no significant differences between the

different sampling areas (RBioPA x RPPNBR t-test = 22.8851; RBioPA x PARNA-Itatiaia  $t = 7.0586$ ; RPPNBR x PARNA-Itatiaia  $t = 10.3493$ ;  $p > 0.05$  for all).

We also used the dominance index to analyze the species composition in each of the three study areas. In RBioPA, *H. leucocelaenus* and *H. capricornii/janthinomys* were eudominant, *A. albopictus* and *C. iridescens* were subdominant, and *A. terreus* was recessive. In RPPNBR, *H. leucocelaenus* was eudominant and *H. janthinomys* was recessive. In PARNA-Itatiaia, *H. leucocelaenus* was eudominant and *L. durhamii* was dominant (Table 2).

Nevertheless, ovitraps have some limitations. For example, they cannot be used to determine absolute population densities, the infusions are not standardized preventing comparison between different traps and occasions, and they are labor intensive<sup>(8)</sup>. However, the only alternative is to sample eggs from natural habitats; therefore, ovitraps should be complemented by human landing catches and larval surveys. In addition, ovitraps do not capture some species, such as mosquitoes (e.g., *A. scapularis* and *A. albopictus*); therefore, it is ideal to utilize several sampling methods (such as light traps), baits, and breeding places. However, ovitraps may provide useful data on seasonal abundance as well as height and environmental preferences. For example, *H. janthinomys* shows a clear preference for foraging at the highest levels of the forest canopy and lays eggs in tree holes situated in very high and unreachable places<sup>(5)</sup>, indicating preference for egg-laying in higher traps<sup>(9)</sup>.

Except for *A. albopictus*, which has adapted to breeding in bamboo internodes and bromeliads (among other places), all species are adapted to several phytotelmata and some of them have also been found in artificial containers<sup>(10)</sup>. For example, *Culex (Carrollia)* spp. are commonly associated with several different phytotelmata<sup>(11)</sup>, including bamboo internodes, the fungus *Aquascypha hydrophora*, palm spathes, *Heliconia*, Araceae, and artificial containers. However, since immature forms of *C. (Carrollia) iridescens* (Lutz, 1905) are frequently found in natural habitats in Serra do Mar, São Paulo<sup>(12)</sup>, but remain absent from human landing catches in the same area<sup>(13)</sup>, these mosquitoes seem to have low anthropophily and thus may not be medically important.

Although the studied areas seemed to be quite ecologically different, they were not significantly different in terms of mosquito diversity. However, species dominance was different across sites.

Among the species already identified as potential vectors of yellow fever virus, *H. janthinomys* stands out as the principal vector in the Americas. This species appears to be highly adapted to different biomes and different abiotic conditions (e.g., temperature and humidity). The potential for virus transmission is enhanced by the geographic distribution of this mosquito, which coincides with areas known to be endemic for the disease<sup>(2)</sup>.

Three mosquito species epidemiologically important to the transmission of arboviruses (*H. leucocelaenus*, *H. janthinomys*, and *A. albopictus*) were collected in the present study; however,

TABLE 1 - Mosquitoes captured in the three study areas in Rio de Janeiro, Brazil.

	2015												
	2014			2015			2015			Total			
	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	Total	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	Total	
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>PARNA-Itatiaia</b>													
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucoelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	85	94.4	65	89.0	0	0.0	340	82.7	n.c.	n.c.	n.c.	490	85.4
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	n.c.	n.c.	n.c.	0	0.0
<i>Wyeomyia</i> sp.	5	5.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	n.c.	n.c.	n.c.	5	0.9
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	0	0.0	3	4.1	0	0.0	0	0.0	n.c.	n.c.	n.c.	3	0.5
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	0	0.0	5	6.8	0	0.0	62	15.1	n.c.	n.c.	n.c.	67	11.7
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	9	2.2	n.c.	n.c.	n.c.	9	1.6
Subtotal	90	100.0	73	100.0	0	0.0	411	100.0	n.c.	n.c.	n.c.	574	100.0
<b>RPPNBR</b>													
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucoelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	345	100.0	0	0.0	320	97.0	45	100.0	40	100.0	40	750	98.7
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	0	0.0	0	0.0	8	2.4	0	0.0	0	0.0	0	8	1.1
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i> Dyar, 1921 (Male specimens)	0	0.0	0	0.0	2	0.6	0	0.0	0	0.0	0	2	0.3
Subtotal	345	100.0	0	0.0	330	100.0	45	100.0	40	100.0	40	760	100.0
<b>RBioPA</b>													
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucoelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	95	95.0	25	71.4	90	81.8	90	46.4	305	68.7	605	27.3	
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	0	0.0	10	28.6	10	9.1	0	0.0	20	4.5	40	1.8	
<i>Aedes (Protomacleana) terrens</i> (Walker, 1856)	5	5.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	1.1	10	0.5	
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	0	0.0	0	0.0	10	9.1	95	49.0	105	23.6	210	9.5	
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz 1905)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	9	4.6	9	2.0	18	0.8	
Subtotal	100	100.0	35	100.0	110	100.0	194	100.0	444	100.0	833	37.6	
Total	535	-	108	-	440	-	650	-	484	-	2,217	100.0	

**PARNA-Itatiaia:** Parque Nacional de Itatiaia; **RBioPA:** Reserva Biológica de Poço das Antas; **RPPNBR:** Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro; **nc:** not collected.

TABLE 2 - Dominance index and standardized index of species abundance for mosquito species in each study area in Rio de Janeiro, Brazil.

Species	Number	D%	SISA	Rank	
<b>PARNA-Itatiaia</b>					
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	490	85.4	Eudominant	0.750	1 <sup>st</sup>
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	3	0.5	Rare	0.083	4 <sup>th</sup>
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	9	1.6	Recessive	0.083	4 <sup>th</sup>
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	67	11.7	Eudominant	0.333	2 <sup>nd</sup>
<i>Wyeomyia</i> sp.	5	0.9	Rare	0.167	3 <sup>rd</sup>
Total	574	100.0	-	-	-
Species richness (S)	5	-	-	-	-
Shannon-Wiener Diversity Index (H')	0.2483	-	-	-	-
<b>RPPNBR</b>					
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	750	98.7	Eudominant	0.800	1 <sup>st</sup>
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	8	1.1	Recessive	0.133	2 <sup>nd</sup>
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i> Dyar, 1921 (male specimens)	2	0.3	Rare	0.067	3 <sup>rd</sup>
Total	760	100.0	-	-	-
Species richness (S)	2	-	-	-	-
Shannon-Wiener Diversity Index (H')	0.0304	-	-	-	-
<b>RBioPA</b>					
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	605	68.5	Eudominant	0.960	1 <sup>st</sup>
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	40	4.5	Subdominant	0.420	3 <sup>rd</sup>
<i>Aedes (Protomacleaya) terrens</i> (Walker, 1856)	10	1.1	Recessive	0.200	4 <sup>th</sup>
<i>Haemagogus capricornii/janthinomys</i>	210	23.8	Eudominant	0.500	2 <sup>nd</sup>
<i>Culex (Carrollia) iridescens</i> (Lutz, 1905)	18	2.0	Subdominant	0.200	4 <sup>th</sup>
Total	883	100.0	-	-	-
Species richness (S)	5	-	-	-	-
Shannon-Wiener Diversity Index (H')	0.3782	-	-	-	-

**PARNA-Itatiaia:** Parque Nacional de Itatiaia; **RBioPA:** Reserva Biológica de Poço das Antas; **RPPNBR:** Reserva Particular do Patrimônio Natural do Bom Retiro; **D%:** dominance index; **SISA:** standardized index of species abundance.

*H. leucocelaenus* was the predominant species. Although Alencar et al.<sup>(9)</sup> reported that egg-laying by this species peaked in April in areas under the of the Simplício hydroelectric dam in Minas Gerais State, Brazil, and that egg-laying varied seasonally, in this locality *H. leucocelaenus* was the predominant species in all seasons<sup>(9)</sup>. *Aedes albopictus* is a potential vector of dengue virus, chikungunya virus, West Nile virus, yellow fever virus, Eastern equine encephalitis virus, and Western equine encephalitis virus, and several other arboviruses<sup>(14)</sup>.

According to the Shannon diversity index, RBioPA had the highest mosquito diversity; however, species richness was highest in PARNA-Itatiaia. The diversity may be reduced by stress in biotic communities, according to Richardson<sup>(15)</sup>.

Although there is no evidence of active sylvatic yellow fever virus transmission in the nature reserves studied here, the abundance of the main mosquito vector for this disease in Brazil necessitates active surveillance for the emergence of the virus in neighboring communities.

#### Financial Support

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ): 26/010.001630/2014; E-26/202.819/2015 and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq): 301345/2013-9.

#### REFERENCES

- Vasconcelos PF, Sperb AF, Monteiro HA, Torres MA, Sousa MR, Vasconcelos HB, et al. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003; 97:60-62.
- Marcondes CB, Alencar J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Rev Biomed* 2010; 21: 221-238.
- Instituto Brasileiro de Defesa Florestal/Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza. Plano de manejo - Reserva Biológica de Poço das Antas. Brasília: Ministério da Agricultura; 1981.
- Takizawa FH. Levantamento pedológico e zoneamento ambiental na Reserva Biológica de Poço das Antas. Relatório Técnico. Piracicaba: Departamento de Ciência do Solo, Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 1995.
- Forattini OP. *Culicidologia Médica*. Volume II. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo; 2002.

6. Roberts DR, Hsi BP. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. *Environ Entomol* 1979; 8:1007-1013.
7. Friebe B. Zur biologie eines buchenwaldbodens: 3. Die Käferfauna. *Carolinea* 1983; 41:45-80.
8. Silver JB. Mosquito ecology: field sampling methods, 3<sup>rd</sup> edição. Springer, New York. 2008.
9. Alencar J, Morone F, De Mello CF, Dégallier N, Lucio PS, de Serra-Freire NM, et al. Flight height preference for oviposition of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors of sylvatic yellow fever virus near the hydroelectric reservoir of Simplicio, Minas Gerais, Brazil. *J Med Entomol* 2013; 50:791-795.
10. Marques GRAM, dos Santos RLC, Forattini OP. *Aedes albopictus* em bromélias de ambiente antrópico no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saude Publica* 2001; 35:243-248.
11. Hutchings RS, Sallum MA, Ferreira RL, Hutchings RW. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. *Med Vet Entomol* 2005; 19:428-441.
12. Alencar J, Serra-Freire NM, Oliveira RFN, Silva JS, Pacheco JB, Guimarães AE. Immature mosquitoes of Serra do Mar Park, São Paulo state, Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 2010; 26:249-256.
13. Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Mello RP. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar Park, State of São Paulo, Brazil. III – daily biting rhythms and lunar cycle influence. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95:753-760.
14. Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V, Fontenille D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. *Microbes Infect* 2009; 11:1177-1185.
15. Richardson BA. The bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a neotropical forest. *Biotropica* 1999; 31:321-336

**Cecília Ferreira de Mello**Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/8749101360026636>

Última atualização do currículo em 17/09/2017

**Resumo informado pelo autor**

Laboratório de Díptera - IOC - Fundação Oswaldo Cruz. Possui graduação em Ciências Biológicas pela Faculdade São José (2014) e mestrado em Biologia Animal pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (2017) na qual obteve o prêmio de aluna nota 10 (FAPERJ). Atualmente é doutoranda na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Colabora como revisora ad hoc do periódico do Journal of Medical Entomology e está participando nas diversas fases dos estudos de monitoramento de mosquitos em Unidades de Conservação no domínio de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro; Atua principalmente nos seguintes temas: Taxonomia, biologia e ecologia de Culicidae.

(Texto informado pelo autor)

Links para Outras Bases:

[SciELO - Artigos em texto completo](#) **Dados pessoais**

Nome Cecília Ferreira de Mello

Nascimento 14/07/1984 - Rio de Janeiro/RJ - Brasil

CPF 108.944.867-80

**Formação acadêmica/titulação**

**2017** Doutorado em Biologia Animal.  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica, Brasil  
Título: Avaliação do padrão de dispersão de *Mansonia* spp. (Diptera: Culicidae) em área de aproveitamento hidrelétrico na Amazônia- UHE Jirau  
Orientador: Jeronimo Augusto Fonseca Alencar   
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

**2015 - 2017** Mestrado em Biologia Animal.  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica, Brasil  
Título: Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos (Diptera: Culicidae) na área da Reserva Biológica de Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro., Ano de obtenção: 2017  
Orientador: Jeronimo Augusto Fonseca Alencar   
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Aluna nota 10

**2011 - 2014** Graduação em Ciências Biológicas.  
Faculdade São José, FSJ, Brasil  
Título: Biodiversidade e distribuição temporal de imaturos de Culicidae em área de Mata Atlântica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
Orientador: Jeronimo Augusto Fonseca Alencar  
Bolsista do(a): Programa Universidade para Todos

**2009 - 2010** Ensino Profissional de nível técnico em Modalidade Normal - Formação de Professores.  
Instituto Analice, I.A, Brasil

**Formação complementar**

**2012 - 2015** Capacitação Técnica em Culicidologia Médica. . (Carga horária: 9999h).  
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio De Janeiro, Brasil

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Acrodendrologia. (Carga horária: 20h).  
Faculdades São José, FSJ, Brasil
- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Triatominae, os vetores da doença de Chagas. (Carga horária: 6h).  
Faculdades São José, FSJ, Brasil
- 2012 - 2012** Curso de curta duração em Anatomia humana aplicada a biologia. (Carga horária: 6h).  
Faculdades São José, FSJ, Brasil

## Atuação profissional

### 1. Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Vínculo  
institucional

- 2015 - 2017** Vínculo: Bolsista Nota 10 FAPERJ , Enquadramento funcional: Mestrado , Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva  
Outras informações:  
Mestrado em Biologia Animal Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pesquisa: Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos (Diptera: Culicidae ) na área da Reserva Biológica de Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro.
- 2013 - 2015** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Treinamento de Capacitação Técnica - Nível 2 , Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva  
Outras informações:  
Desenvolvimento do seguinte projeto: Biodiversidade de Culicidae em áreas de preservação de Mata Atlântica do Parque Natural Municipal de Nova Iguaçu, e da Reserva Ecológica de Guapiaçu, ambos no Estado do Rio de Janeiro. FINANCIADORA: FAPERJ
- 2011 - 2013** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista de Extensão , Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva  
Outras informações:  
Identificação de áreas potenciais de criadores de vetores e seu monitoramento para empreendimento da Usina Hidrelétrica de São Salvador coordenada pelo Dr. Anthony Érico Guimarães.  
Financiadora: FIOTEC
- 2011 - 2011** Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Estagiária , Carga horária: 30, Regime: Dedicção exclusiva  
Outras informações:  
Conservação e montagem de imaturos e adultos de mosquitos e organização de coleções de referência de espécies de Culicidae com ênfase para principais vetores de doenças humanas no Brasil; Expedições científicas para coleta de mosquitos vetores de doenças em áreas de conservação ambiental e áreas de grande impacto por ações antrópicas.

### 2. Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Vínculo  
institucional

- 2011 - 2011** Vínculo: Colaboradora , Enquadramento funcional: Estagiária , Carga horária: 30, Regime: Dedicção exclusiva

Atividades

- 07/2011 - 12/2011** Estágio, Instituto Oswaldo Cruz
- Estágio:  
•Conservação e montagem de imaturos e adultos de mosquitos e organização de coleções de referência de espécies de Culicidae com ênfase para principais vetores de doenças humanas no Brasil;  
•Expedições científicas para coleta de mosquitos vetores de doença

### 3. Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde - FIOTEC

Vínculo  
institucional

**2012 - 2013** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista de Extensão , Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva

Atividades

**12/2011 - 09/2013** Estágio, Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde (Fiotec)

Estágio:

Identificação de áreas potenciais de criadores de vetores e seu monitoramento para empreendimento da Usina Hidrelétrica de São Salvador coordenada pelo Dr. Anthony Érico Guimarães.

Financiadora: FIOTEC

4. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ

Vínculo institucional

**2013 - 2015** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Treinamento de Capacitação Técnica - Nível 2 , Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva

Atividades

**09/2013 - 08/2015** Treinamento, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

Especificação:

Desenvolvimento do seguinte projeto: "Biodiversidade de Culicidae em áreas de preservação de Mata Atlântica do Parque Natural Municipal de Nova Iguaçu, e da Reserva Ecológica de Guapiaçu, ambos no Estado do Rio de Janeiro". FINANCIADORA: FAPERJ

5. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

Vínculo institucional

**2015 - 2017** Vínculo: Aluna de Mestrado , Enquadramento funcional: Bolsista , Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva  
Outras informações:  
Premiada pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro FAPERJ no Programa MESTRADO/DOCTORADO NOTA 10, 2017

Atividades

**08/2015 - Atual** Extensão Universitária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Especificação:

Projeto de pesquisa em andamento: Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos (Diptera: Culicidae ) na área da Reserva Biológica de Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro.

## Revisor de periódico

1. Journal of Medical Entomology

Vínculo

**2016 - Atual** Regime: Parcial

## Produção

Produção bibliográfica

### Artigos completos publicados em periódicos

1. [doi](#) ALENCAR, J.; PACHECO, J. B.; SILVA, J. S.; MELLO, CECILIA F.; Guimarães, A.E  
Biology of *Psorophora albigena* (Peryassú, 1908) (Diptera:

- Culicidae) under laboratory conditions. JOURNAL OF THE AMERICAN MOSQUITO CONTROL ASSOCIATION. [JCR](#), v.33, p.64 - 66, 2017.
2. [doi](#) MELLO, CECILIA F.; SANTOS-MALLET, J. R.; GLEISER, R. M.; ALENCAR, J.  
Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albipes* (Theobald, 1907) (Diptera: Culicidae). ZOOTAXA (ONLINE). [JCR](#), v.4317, p.196 - , 2017.
  3. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO; MELLO, CECILIA F.; SERRA-FREIRE, N. M.; GUIMARAES, A. E.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; GLEISER, R. M.  
Biodiversity and Temporal Distribution of Immature Culicidae in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro State, Brazil. Plos One. [JCR](#), v.11, p.e0159240 - , 2016.
  4. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO; MELLO, CECILIA F.; BARBOSA, L. S.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; MAIA, D. A.; MARCONDES, C. B.; SILVA, J. S.  
Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Revista. [JCR](#), v.49, p.1 - 6, 2016.
  5. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO; DE MELLO, CECILIA FERREIRA ; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; DA SILVA, CHRISTINA S.; SARMENTO, JULIANA S.; DE LA FUENTE, ANA LAURA CARBAJAL  
Phenotypic Plasticity In Response To Seasonal Variation In Populations of *Culex* ( *Melanoconion* ) *Bastagarius*. JOURNAL OF THE AMERICAN MOSQUITO CONTROL ASSOCIATION. [JCR](#), v.32, p.333 - 336, 2016.
  6. [doi](#) ARAKI, A. S.; MAIA, D. A.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; MELLO, CECILIA F.; MARTINS JUNIOR, A. J.; ALENCAR, J.  
Variation in Mitochondrial Cytochrome c Oxidase I DNA Can Successfully Identify *Culex* ( *Melanoconion* ) *pedroi* (Diptera: Culicidae) and *Culex* ( *Melanoconion* ) *ribeirensis* (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. [JCR](#), p.tjw197 - 4, 2016.
  7. [doi](#) ALENCAR, J.; MELLO, CECILIA F.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; GUIMARAES, A. E.; ALMEIDA, S. A. S.; GLEISER, R. M.  
Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). Journal of Vector Ecology. [JCR](#), v.41, p.18 - 26, 2016.
  8.  [doi](#) ALENCAR, J.; MELLO, C. F.; GUIMARAES, A. E.; GIL-SANTANA, H. R.; SILVA, J. S.; SANTOS-MALLET, J. R.; GLEISER, R. M.  
Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. Plos One. [JCR](#), v.10, p.e0122268 - 16, 2015.
  9. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO; MELLO, C. F.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; GIUPPONI, A. P. L.; ARAUJO, A. N.; LOROSA, E. S.; GUIMARAES, A. E.; SILVA, J. S.  
Feeding Patterns of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil. Journal of Medical Entomology. [JCR](#), p.tjv098 - 6, 2015.
  10. [doi](#) ALENCAR, J.; GLEISER, R. M.; Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; SILVA, J. S.; SERRA-FREIRE, N. M.; Guimarães,A.E  
A comparative study of the effect of multiple immersions on *Aedini* (Diptera: Culicidae) mosquito eggs with emphasis on sylvan vectors of yellow fever virus. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso). [JCR](#), v.109, p.114 - 117, 2014.
  11. [doi](#) CORREA, FABIANA F.; GLEISER, RAQUEL M.; LEITE, PAULO J.; FAGUNDES, EZEQUIAS; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; MELLO, CECILIA F.; GREDILHA, RODRIGO; ALENCAR, JERONIMO  
Mosquito Communities in Nova Iguaçu Natural Park, Rio de Janeiro, Brazil. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.30, p.83 - 90, 2014.
  12. [doi](#) SARMENTO, J. S.; MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J.; OLIVEIRA, E. M.; MELLO, C. F.; FREITAS, V. F.; SANTOS-MALLET, J. R.  
Scanning electron microscopy of eggs of [Georgecraigius fluviatilis](#) (Lutz) (Diptera: Culicidae, Aedini) . Zootaxa (Online). [JCR](#), v.3784, p.591 - , 2014.

13.  MELLO, C. F.; SANTOS-MALLET, J. R.; Morone, Fernanda; Guimarães, A. E.; MARCONDES, C. B.; ALENCAR, J. Ultrastructure of the egg of *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas, 1907) (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*. , v.39, p.219 - 221, 2014.
14.  ALENCAR, J.; Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; DEGALLIER, N.; LUCIO, P. S.; SERRA-FREIRE, N. M.; Guimarães, A. E. Flight Height Preference for Oviposition of Mosquito (Diptera: Culicidae) Vectors of Sylvatic Yellow Fever Virus Near the Hydroelectric Reservoir of Simplício, Minas Gerais, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. , v.50, p.791 - 795, 2013.
15.  ALENCAR, J.; Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; GIL-SANTANA, H. R.; Guimarães, A. E. Immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a eutrophic landfill tank from State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso)*. , v.46, p.769 - 771, 2013.

#### Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. ALENCAR, JERONIMO; MELLO, C. F.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R.; GUIMARAES, A. E.; CASTRO, T. N.; GLEISER, RAQUEL M. Atividade Vertical de Oviposição de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em Floresta Atlântica do Brasil, com ênfase em *Haemagogus* vetores silvestres do vírus da febre amarela. In: Atividade Vertical de Oviposição de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em Floresta Atlântica do Brasil, com ênfase em *Haemagogus* vetores silvestres do vírus da febre amarela., 2015, Cachoeiras de Macacu. Atividade Vertical de Oviposição de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em Floresta Atlântica do Brasil, com ênfase em *Haemagogus* vetores silvestres do vírus da febre amarela. . . , 2015.
2. MELLO, C. F.; SERRA-FREIRE, N. M.; GIL-SANTANA, H. R.; GLEISER, R. M.; SARMENTO, J. S.; ALENCAR, JERONIMO Biodiversidade e distribuição temporal de imaturos de Culicidae em área de Mata Atlântica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil In: Biodiversidade e distribuição temporal de imaturos de Culicidae em área de Mata Atlântica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 2015, Cachoeiras de Macacu. Biodiversidade e distribuição temporal de imaturos de Culicidae em área de Mata Atlântica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil . . , 2015.
3. ALENCAR, JERONIMO; MELLO, C. F.; MAIA, D. A.; GIL-SANTANA, HÉLCIO R. Novos registros de ocorrência de espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) para o estado do Rio de Janeiro. In: Anais do 1 Encontro Científico REGUA, 2015, Cachoeiras de Macacu. Novos registros de ocorrência de espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) para o estado do Rio de Janeiro. . . , 2015.
4. ARAUJO, A. N.; MELLO, C. F.; GIL-SANTANA, H. R.; GUIMARAES, A. E.; ALENCAR, J. Acrodendrofilia de mosquitos com ênfase em *Haemagogus* (Diptera: Culicidae) vetores silvestres do vírus da febre amarela. In: XXV Congresso Brasileiro de Entomologia., 2014, Goiânia. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Entomologia . Goiânia: . , 2014.
5. ARAUJO, A. N.; MELLO, C. F.; GIL-SANTANA, H. R.; SILVA, J. S.; Guimarães, A. E.; LOROSA, E. S.; ALENCAR, J. Observações Sobre Padrões Alimentares de Mosquitos (Diptera: Culicidae) na Reserva Ecológica do Guapiaçu, estado Rio de Janeiro. In: XXV Congresso Brasileiro de Entomologia., 2014, Goiânia. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Entomologia . Goiânia: . , 2014.
6. MELLO, C. F.; SANTOS-MALLET, J. R.; Morone, Fernanda; Guimarães, A. E.; ALENCAR, J. Microscopia Eletrônica de Varredura de Ovos *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas) (Diptera: Culicidae) In: II Simpósio de Entomologia do Rio de Janeiro, 2013, Rio de Janeiro. Anais do II Simpósio de Entomologia do Rio de Janeiro . Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2013.
7. Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; Guimarães, A. E.; ALENCAR, J. Culicidae associados a entrenós de bambu, em área do Aproveitamento Hidrelétrico de Simplício, Minas Gerais – Brasil In:

- XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
8.  MELLO, C. F.; Morone, Fernanda; Guimarães,A.E; ALENCAR, J. Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) associados a bromélias na reserva ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  9. ALENCAR, J.; Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; CARRERA-ALVES, J. R.; Guimarães,A.E  
Imaturos de mosquitos (Diptera: Culicidae) em tanque eutrofizado de aterro sanitário In: I Simbioma, 2012, Santa Tereza.  
Anais do I Simbioma . Santa Tereza: , 2012.
  10. ALENCAR, J.; MELLO, C. F.; Morone, Fernanda; Guimarães,A.E; SILVA, J. S.; SANTOS-MALLET, J. R.  
Indicadores morfológicos em asas de *Haemagogus capricornii* e *Hg. janthinomys* (Diptera, Culicidae) In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  11. ALENCAR, J.; Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; SILVA, J. S.; Guimarães,A.E  
Múltiplas imersões de ovos de *Haemagogus janthinomys* e *Hg. leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  12. PACHECO, J. B.; Guimarães,A.E; MELLO, C. F.; COSTA, J. M.; ALENCAR, J.  
Preferência alimentar de *Psorophora (Janthinosoma) albigenu* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae) em áreas do Pantanal Mato-Grossense In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  13. ALENCAR, J.; Morone, Fernanda; MELLO, C. F.; DEGALLIER, N.; LUCIO, P. S.; Guimarães,A.E  
Preferência da altura de voo para oviposição de mosquitos vetores silvestres do vírus da febre amarela (Diptera: Culicidae) em área do aproveitamento hidrelétrico de Simplício, Minas Gerais, Brasil In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.

#### Produção técnica

#### Demais produções técnicas

1. MELLO, CECILIA F.; ALENCAR, J.  
Entomologia – Principais características morfológicas das espécies vetoras e prática em Triangulação e identificação de entomofauna , 2017. (Outra produção técnica)
2. ALENCAR, J.; DE MELLO, CECILIA FERREIRA  
Determinantes Ecológicos da Dinâmica das Doenças Transmitidas por Vetores do , 2016. (Outra produção técnica)
3. MELLO, CECILIA F.; ALENCAR, J.  
Qualificação Profissional em Vigilância em saúde Ambiental com Ênfase em Riscos Biológicos , 2016. (Aperfeiçoamento, Curso de curta duração ministrado)
4. ALENCAR, JERONIMO; MELLO, CECILIA F.  
Programa de Saúde Pública - Subprograma de Monitoramento de Vetores , 2015. (Relatório de pesquisa)
5.  MELLO, CECILIA F.  
Qualificação Profissional em Vigilância em saúde Ambiental com Ênfase em Riscos Biológicos , 2015. (Aperfeiçoamento, Curso de curta duração ministrado)
6. ALENCAR, JERONIMO; MELLO, CECILIA F.; DIAS, C. F. S.  
SERVIÇO DE COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE MOSQUITOS

(DIPTERA: CULICIDAE) NO CAMPUS FIOCRUZ DA MATA ATLÂNTICA (CFMA) , 2015. (Relatório de pesquisa)

7. [ALENCAR, JERONIMO](#); MELLO, CECILIA F. Curso de Especialização em Entomologia Médica , 2014. (Outra produção técnica)
8. MELLO, CECILIA F.; [ALENCAR, JERONIMO](#) Febre Amarela Silvestre , 2013. (Maquete)

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 07/11/2017 às 11:32:39.

**Jeronimo Augusto Fonseca Alencar**Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/6783152813274111>

Última atualização do currículo em 21/10/2017

**Resumo informado pelo autor**

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Fundação Técnico Educacional Souza Marques (FTESM) e doutorado em Ciências Biológicas (Zoologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Atualmente é pesquisador da Fundação Oswaldo Cruz, orientador credenciado no Programa de Pós-graduação Stricto sensu em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz (PGMT/IOC/Fiocruz) e no Curso de pós-graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), bolsista jovem cientista da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), colabora como revisor ad hoc de 14 periódicos científicos ou agências financiadoras, na área de entomologia médica, especialmente em ecologia e biologia de Culicidae, além do CONICET (Argentina), CNPq e FACEPE. (Texto informado pelo autor)

Links para Outras Bases:

[SciELO - Artigos em texto completo](#) **Dados pessoais**

Nome Jeronimo Augusto Fonseca Alencar

Nascimento 30/09/1967 - Ilhéus/BA - Brasil

CPF 005.893.247-05

**Formação acadêmica/titulação**

- 2005 - 2008** Doutorado em Ciências Biológicas (Zoologia).  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio De Janeiro, Brasil  
Título: ASPECTOS BIOECOLÓGICOS E MORFOLÓGICOS DE HAEMAGOGUS (DIPTERA: CULICIDAE), VETORES SILVESTRES DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA NO BRASIL, Ano de obtenção: 2008  
Orientador: Janira Martins Costa e Anthony Érico Guimarães
- 1997 - 1997** Especialização em Especialização em Entomologia.  
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil  
Título: Observações Ecológicas sobre a fauna de mosquitos (Diptera:Culicidae) em áreas de influência da Usina Hidrelétrica de Corumbá, Município de Caldas Novas, Estado de Goiás, Brasil.  
Orientador: Anthony Érico Guimarães
- 1994 - 1997** Graduação em Ciências Biológicas.  
Fundação Técnico Educacional Souza Marques, FTESM, Brasil

**Pós-doutorado**

- 2009 - 2010** Pós-Doutorado .  
Museu Nacional, MN, Brasil

**Formação complementar**

- 2006 - 2006** Curso de curta duração em Curso de Gerenciamento de Resíduos Químicos. (Carga horária: 4h).  
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil
- 2004 - 2004** Inglês Instrumental. . (Carga horária: 60h).  
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil
- 2004 - 2004** Cultivo Celular e Biologia Molecular de Arbovirus. . (Carga horária: 40h).  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Brasil

- 2001 - 2001** Culicidologia Médica. . (Carga horária: 40h).  
Secretaria de Estado de Saúde de Brasília, GDF, Brasil
- 1998 - 1998** Curso de curta duração em Técnicas Avançadas Mon e Contr Quim de Insetos. (Carga horária: 45h).  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio De Janeiro, Brasil
- 1998 - 1998** Princípios da Biogeografia. . (Carga horária: 12h).  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropedica, Brasil
- 1995 - 1995** Introdução Avaliação de Impactos Ambientais. . (Carga horária: 25h).  
Universidade Gama Filho, UGF, Rio De Janeiro, Brasil
- 1994 - 1994** Morfologia, Sistemática e Conservação de Insetos. . (Carga horária: 22h).  
Fundação Técnico Educacional Souza Marques, FTESM, Brasil

## Atuação profissional

---

### 1. Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Vínculo  
institucional

- 1994 - 1994** Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 40, Regime: Integral

### 2. Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do RJ - FAPERJ

Vínculo  
institucional

- 2015 - Atual** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista Jovem Cientista , Carga horária: 999, Regime: Integral

### 3. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

Vínculo  
institucional

- 2014 - Atual** Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Colaborador Pós graduação em Biologia animal , Carga horária: 999, Regime: Integral

### 4. Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde - FIOTEC

Vínculo  
institucional

- 2009 - 2013** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista de pesquisa , Carga horária: 999, Regime: Integral

### 5. Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Vínculo  
institucional

- 2001 - Atual** Vínculo: Servidor público , Enquadramento funcional: Técnico , Carga horária: 40, Regime: Integral  
Outras informações:  
Pesquisa sobre a ecologia e a taxonomia do insetos da família Culicidae de importancia medico- veterinário.

Atividades

- 09/2013 - Atual** Pós-graduação, Medicina Tropical

Disciplinas ministradas:

Vetores de doenças infecciosas. , Determinantes ecológicos da dinâmica das doenças transmitidas por vetores. , Seminários de entomologia.

- 01/2005 - Atual** Direção e Administração, Instituto Oswaldo Cruz

Cargos ocupados:

Chefe Substituto do Laboratório de Diptera

01/2003 - Atual Pós-graduação, Biologia Parasitária

Disciplinas ministradas:  
Disciplina de Seminários de Entomologia

10/2001 - Atual Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia

Linhas de pesquisa:  
Ecologia, Morfologia e Taxonomia de Culicídae , Ecogenética de Haemagogus (Diptera:Culicidae) vetores de arbovírus neotropicais

05/1995 - 12/2001 Estágio, Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia

Estágio:  
Laboratório de Diptera- Culicídeos

6. Institut de Recherche pour le Développement - IRD

Vínculo  
institucional

1996 - 2000

7. Fundação Nacional de Saúde - Presidência - FUNASA

Vínculo  
institucional

1987 - 2001 Vínculo: Servidor público ou celetista , Enquadramento funcional: Guarda de endemias , Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva

Atividades

10/1987 - 08/2001 Serviço Técnico Especializado, Fundação Nacional de Saúde do Rio de Janeiro, Coordenação Regional do Rio de Janeiro

Especificação:  
Supervisor de medidas adotadas para controle de Aedes aegypti e Treinamento de agentes Saúde Pública para controle da dengue

Linhas de pesquisa

1. Ecogenética de Haemagogus (Diptera:Culicidae) vetores de arbovírus neotropicais
2. Ecologia, Morfologia e Taxonomia de Culicídae

Objetivos:Avaliar parâmetros bioecológicos e taxonômicos de diferentes populações geográficas de Haemagogus, vetores efetivos ou potenciais do vírus da Febre Amarela Silvestre, em algumas regiões do Brasil, com ênfase no Estado do Rio de Janeiro.

## Revisor de periódico

1. NEOTROPICAL ENTOMOLOGY

Vínculo

2017 - Atual Regime: Parcial

2. Journal of Medical Entomology

Vínculo

2015 - Atual Regime: Parcial

3. Journal of Insect Science (Online)

Vínculo

2015 - Atual Regime: Parcial

4. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso)

Vínculo

**2013 - Atual** Regime: Parcial

5. Biotemas

Vínculo

**2013 - Atual** Regime: Parcial

6. Iheringia. Série Zoologia (Online)

Vínculo

**2013 - Atual** Regime: Parcial

7. Arquivos do Instituto Biológico (Online)

Vínculo

**2013 - Atual** Regime: Parcial

8. Journal of Tropical Medicine

Vínculo

**2011 - Atual** Regime: Parcial

Outras informações:

Journal of Tropical Medicine is a peer-reviewed, open access journal that publishes original research articles, review articles, and clinical studies in all areas of tropical medicine.

9. Revista Colombiana de Entomología

Vínculo

**2011 - Atual** Regime: Parcial

10. Brazilian Journal of Biology (Online)

Vínculo

**2011 - Atual** Regime: Parcial

11. Biota Neotropica (Edição em português. Impresso)

Vínculo

**2010 - Atual** Regime: Parcial

12. Journal of the American Mosquito Control Association

Vínculo

**2009 - Atual** Regime: Parcial

13. Journal of Vector Ecology

Vínculo

**2009 - Atual** Regime: Parcial

14. EntomoBrasilis

Vínculo

**2008 - Atual** Regime: Parcial

Outras informações:

Períodico online EntomoBrasilis (ISSN 1983-0572) fundado em 2008 pelo projeto Entomologistas do Brasil,

---

#### Membro de corpo editorial

1. EntomoBrasilis

Vínculo

**2008 - Atual** Regime: Parcial  
 Outras informações:  
 O periódico online EntomoBrasilis (ISSN 1983-0572) fundado em 2008 pelo projeto Entomologistas do Brasil, tem como objetivo publicar artigos originais, de forma rápida, das mais diversas áreas da Entomologia Brasileira, tais como: Bionomia; Comportamento; Ecologia; Entomologia Geral; Fisiologia; Modelos Ecológicos Aplicados à Entomologia; Morfologia; Revisões; Saúde Pública; Sistemática e Taxonomia e demais áreas afins à Entomologia Brasileira.

## Revisor de projeto de agência de fomento

---

1. Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica - FONCYT

Vínculo

**2016 - Atual** Regime: Parcial

2. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

Vínculo

**2014 - Atual** Regime: Parcial

**2013 - 2017** , Enquadramento funcional: Bolsista de Produtividade , Carga horária: 999, Regime: Integral

3. (FACEPE) Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco

Vínculo

**2012 - Atual** Regime: Parcial

**2012 - Atual** Regime: Parcial

## Produção

---

Produção bibliográfica

### Artigos completos publicados em periódicos

- [doi>](#) Alencar , Jeronimo ; PACHECO, J. B.; SILVA, Julia dos Santos; Mello, C.F; GUIMARÃES, A. E.  
 BIOLOGY OF PSOROPHORA ALBIGENU (PERYASSÚ, 1908) (DIPTERA: CULICIDAE) UNDER LABORATORY CONDITIONS. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.33, p.64 - 66, 2017.
- [doi>](#) FERREIRA, A. T.; MAIA, D. A.; Alencar , Jeronimo  
 Development of Preimaginal Stages of (Diptera: Culicidae) in Laboratory Conditions. ENTOMOLOGICAL NEWS. [JCR](#), v.127, p.142 - 150, 2017.
- [doi>](#) FERREIRA, A. T.; MAIA, D. A.; ABREU, F. V. S.; RODRIGUES, W. C.; Alencar , Jeronimo  
 Oviposition behavior of Haemagogus leucocelaenus (Diptera: Culicidae), a vector of wild yellow fever in Brazil. REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SAO PAULO. [JCR](#), v.59, p.1 - 6, 2017.
- [doi>](#) Mello, C.F; MALLET, Jacenir R S Santos; GLEISER, R. M.; ALENCAR, JERONIMO  
 Ultrastructure and morphometry of the egg of Psorophora albipes (Theobald, 1907) (Diptera: Culicidae). ZOOTAXA. [JCR](#), v.4317, p.1 - 5, 2017.
- [doi>](#) Alencar , Jeronimo ; Mello, C.F; SERRA-FREIRE, Nicolau Maues; Guimarães, A. E.; SANTANA, Hécio Reinaldo Gil; Gleiser, R.G  
 Biodiversity and Temporal Distribution of Immature Culicidae in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro State, Brazil. Plos One. [JCR](#), v.11, p.e0159240 - , 2016.

6. [doi](#) Alencar , Jeronimo ; Mello, C.F; BARBOSA, L. S.; GIL-SANTANA, Hécio R.; MAIA, D. A.; MARCONDES, Carlos Brisola; SILVA, Júlia dos Santos  
Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro, Brazil. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Revista. [JCR](#), v.49, p.351 - 356, 2016.
7. [doi](#) Alencar , Jeronimo ; Mello, C.F; GIL-SANTANA, Hécio R.; SILVA, C.; Sarmiento, J.S; FUENTE, A. L. C. L.  
Phenotypic Plasticity In Response To Seasonal Variation In Populations of ( ). Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.32, p.333 - 336, 2016.
8. [doi](#) ARAKI, A. S.; MAIA, D. A.; GIL-SANTANA, Hécio R.; Mello, C.F; MARTINS, A. J.; Alencar , Jeronimo  
Variation in Mitochondrial Cytochrome c Oxidase I DNA Can Successfully Identify Culex ( Melanoconion ) pedroi (Diptera: Culicidae) and Culex ( Melanoconion ) ribeirensis (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. [JCR](#), p.tjw197 - 4, 2016.
9. [doi](#) Alencar , Jeronimo ; Mello, C.F; GIL-SANTANA, Hécio R.; Guimarães, Anthony Érico; ALMEIDA, S. A. S.; Gleiser, R.G  
Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, (Diptera: Culicidae). Journal of Vector Ecology. [JCR](#), v.41, p.18 - 26, 2016.
10. [doi](#) Alencar , Jeronimo ; Mello, C.F; Guimarães, Anthony Érico; GIL-SANTANA, Hécio R.; SILVA, Júlia dos Santos; MALLET, Jacenir R S Santos; Gleiser, R.G  
Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. Plos One. [JCR](#), v.10, p.e0122268 - , 2015.
11. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO ; Mello, C.F; GIL-SANTANA, Hécio R.; GIUPPONI, A. P. L.; ARAUJO, A. N.; SEIXAS-LOROSA, ELIAS; Guimarães, Anthony Érico; SILVA, Julia dos Santos  
Feeding Patterns of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil. Journal of Medical Entomology. [JCR](#), p.tjv098 - , 2015.
12. [doi](#) Alencar , Jeronimo ; GIL-SANTANA, Hécio R.  
Taxonomical and biological notes on Sabethes (Peytonulus) fabricii Lane & Cerqueira (Diptera: Culicidae). Brazilian Journal of Biology (Online). [JCR](#), v.75, p.192 - 195, 2015.
13. [doi](#) SANTANA, H. R. G.; Alencar , Jeronimo  
The Correct Type Localities of Three Species of Sabethini. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.31, p.104 - 106, 2015.
14. [doi](#) Melandri, V.C.R; Alencar , Jeronimo ; Guimarães, Anthony Érico  
The influence of the area of the Serra da Mesa Hydroelectric Plant, State of Goiás, on the frequency and diversity of anophelines (Diptera: Culicidae): a study on the effect of a reservoir. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso). [JCR](#), v.48, p.33 - 38, 2015.
15. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO ; Gleiser, R.G; MORONE, F. C.; Mello, C.F; SILVA, Julia dos Santos; SERRA-FREIRE, Nicolau Maues; Guimarães, A. E.  
A comparative study of the effect of multiple immersions on Aedini (Diptera: Culicidae) mosquito eggs with emphasis on sylvan vectors of yellow fever virus. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso). [JCR](#), v.109, p.114 - 117, 2014.
16. [doi](#) Correa, F.F; Gleiser, R.G; Leite, P.J; Fagundes, E; GIL-SANTANA, Hécio R.; Mello, C.F; GREDILHA, R.; Alencar , Jeronimo  
Mosquito Communities in Nova Iguaçu Natural Park, Rio de Janeiro, Brazil. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.30, p.83 - 90, 2014.
17. [doi](#) Silva, J. S.; Couri, M; GIUPPONI, A. P. L.; ALENCAR, JERONIMO  
Mosquito fauna of the Guapiçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil, collected under the influence of different color CDC light traps. Journal of Vector Ecology. [JCR](#), v.39, p.384 - 394, 2014.
18. [doi](#) Sarmiento, J.S; MARCONDES, Carlos Brisola; Alencar , Jeronimo ; Oliveira, E.M; Mello, C.F; FREITAS, V. F.; MALLET, Jacenir R S Santos  
Scanning electron microscopy of eggs of Georgecraigius

fluviatilis

(Lutz) (Diptera: Culicidae, Aedini)

. Zootaxa (Online). [JCR](#), v.3784, p.591 - , 2014.

19. [doi](#) Mello, C.F.; MALLET, Jacenir R S Santos; MORONE, F. C.; Guimarães, A. E.; MARCONDES, Carlos Brisola; Alencar, Jeronimo Ultrastructure of the egg of *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas, ) (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*. [JCR](#), v.39, p.219 - 221, 2014.
20. [doi](#) ALENCAR, JERONIMO ; MORONE, FERNANDA; DE MELLO, CECÍLIA FERREIRA; DÉGALLIER, Nicolas; LUCIO, PAULO SÉRGIO; DA SERRA-FREIRE, NICOLAU MAUÉS; GUIMARÃES, Anthony Érico Flight Height Preference for Oviposition of Mosquito (Diptera: Culicidae) Vectors of Sylvatic Yellow Fever Virus Near the Hydroelectric Reservoir of Simplício, Minas Gerais, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. [JCR](#), v.50, p.791 - 795, 2013.
21. [doi](#) Alencar, Jeronimo ; MORONE, F. C.; Mello, C.F.; GIL-SANTANA, Hélcio R.; Guimarães, A. E. Immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a eutrophic landfill tank from State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso)*. [JCR](#), v.46, p.769 - 771, 2013.
22. [doi](#) MALLET, Jacenir R S Santos; Sarmiento, J.S; Müller, G.A; Oliveira, E.M; FOSTER, W. A.; MARCONDES, Carlos Brisola; Alencar, Jeronimo Scanning Electron Microscopy of Eggs of *Sabethes cyaneus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*. [JCR](#), v.29, p.64 - 68, 2013.
23. [doi](#) Alencar, Jeronimo; Mello, V.S; FREIRE, Nicolau Maués Serra; SILVA, Júlia dos Santos; MORONE, F. C.; GUIMARÃES, Anthony Erico Evaluation of Mosquito (Diptera: Culicidae) Species Richness using Two Sampling Methods in the Hydroelectric Reservoir of Simplício, Minas Gerais, Brazil. *Zoological Science*. [JCR](#), v.29, p.218 - 222, 2012.
24. [doi](#) Alencar, Jeronimo; SILVA, Júlia dos Santos; Oliveira, L.C.M; MARCONDES, Carlos Brisola; MORONE, F. C.; LOROSA, Elias Seixas Feeding Patterns of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) From Eastern Santa Catarina State, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. [JCR](#), v.49, p.952 - 954, 2012.
25. [doi](#) DOS SANTOS SILVA, JÚLIA; Alencar, Jeronimo; COSTA, Janira Martins; SEIXAS-LOROSA, ELIAS; Guimarães, Anthony Érico; Guimarães, A. E. Feeding patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in six Brazilian environmental preservation areas. *Journal of Vector Ecology*. [JCR](#), v.37, p.342 - 350, 2012.
26. SILVA, Julia dos Santos; FUENTE, A.; Serra-Freire, Nicolau Maués; Guimarães, Anthony Érico; Guimarães, A. E.; Alencar, Jeronimo; SARMENTO, J. Morphometric analysis of *Chagasia fajardi* (Diptera: Culicidae) populations in Brazil. *Revista Colombiana de Entomologia*. [JCR](#), v.38, p.210 - 215, 2012.
27. [doi](#) MARCONDES, Carlos Brisola; Müller, G.A; MALLET, Jacenir R S Santos; Alencar, Jeronimo; Sarmiento, J.S; SANTOS, C. B.; REZENDE, H. R. Scanning electron microscopy of eggs of *Ochlerotatus taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae, Aedini). *Zootaxa (Online)*. [JCR](#), v.3509, p.77 - , 2012.
28. MELANDRI, V.; GUIMARÃES, Anthony Erico; Komar, N; Nogueira, M; Mondini, A; Fernandez-Sesma, A; Alencar, Jeronimo ; BOSCH, Irene Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso)*. [JCR](#), v.107, p.1073 - 1075, 2012.
29. [doi](#) PACHECO, Juliana Barreto; MALLET, Jacenir R Santos; GUIMARÃES, A. E.; COSTA, Janira Martins; Alencar, Jeronimo Ultrastructure and morphometry of the egg of *Psorophora albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae). *Micron (Oxford)*. [JCR](#), v.43, p.418 - 421, 2012.
30. Alencar, Jeronimo; FERREIRA, Zenir Mello; LOPES, Catarina Macedo; FREIRE, Nicolau Maués Serra; MELLO, Rubens Pinto de; SILVA, Júlia dos Santos; GUIMARÃES, Anthony Erico Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera:

- Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. [JCR](#), v.48, p.223 - 231, 2011.
31. [doi](#) Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, Jeronimo](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [Correa, F.F](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#) New report on the bionomics of *Coquillettidia venezuelensis* in temporary breeding sites (Diptera: Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso)*. [JCR](#), v.44, p.247 - 248, 2011.
  32. [doi](#) [Aragão, N.C](#); [Müller, G.A](#); [Balbino, V.Q](#); [Junior, R.L.C](#); [Junior, C.S.F](#); Alencar, Jeronimo; [MARCONDES, Carlos Brisola](#) A list of mosquito species of the Brazilian State of Pernambuco, including the first report of *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae), yellow fever vector and 14 other species (Diptera: Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso)*. [JCR](#), v.43, p.458 - 459, 2010.
  33. [doi](#) [SILVA, Júlia dos Santos](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Erico](#) Biodiversity and influence of climatic factors on mosquitoes (Diptera: Culicidae) around the Peixe Angical hydroelectric scheme in the state of Tocantins, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso)*. [JCR](#), v.105, p.155 - 162, 2010.
  34. [doi](#) [LOROSA, Elias Seixas](#); [FARIAS, Mariana S.](#); [Oliveira, L.C.M](#); Alencar, Jeronimo; [MARCONDES, Carlos Brisola](#) Blood Meal Identification of Selected Mosquitoes in Rio De Janeiro, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association*. [JCR](#), v.26, p.18 - 23, 2010.
  35. [doi](#) Alencar, Jeronimo; [SERRA-FREIRE, Nicolau Maués](#); [OLIVEIRA, Renata de Freitas Nunes de](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#) Immature Mosquitoes Of Serra Do Mar Park, São Paulo State, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association*. [JCR](#), v.26, p.249 - 256, 2010.
  36. [doi](#) Alencar, Jeronimo; [SERRA-FREIRE, Nicolau Maués](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [Correa, F.F](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#) Influence of Climatic Factors on the Population Dynamics of *Haemagogus Janthinomys* (Diptera: Culicidae), a Vector of Sylvatic Yellow Fever. *Entomological News*. [JCR](#), v.121, p.45 - 52, 2010.
  37. [doi](#) Alencar, Jeronimo; [SANTANA, Hélcio Reinaldo Gil](#); [OLIVEIRA, Renata de Freitas Nunes de](#); [DÉGALLIER, Nicolas](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#) Natural Breeding Sites for. *Entomological News*. [JCR](#), v.121, p.393 - 396, 2010.
  38. [doi](#) [PAUVOLID-CORRÊA, A](#); [TAVARES, F. N](#); Alencar, Jeronimo; [SILVA, Júlia dos Santos](#); [MURTA, M. M](#); [FREIRE, Nicolau Maués da Serra](#); [PELLEGRIN, A](#); [SANTANA, H. R. G.](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); [SILVA, E. E](#) Preliminary investigation of Culicidae species in South Pantanal, Brazil and their potential importance in arbovirus transmission. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Impresso)*. [JCR](#), v.52, p.17 - 24, 2010.
  39. [MARCONDES, Carlos Brisola](#); Alencar, Jeronimo Revisão de mosquitos *Haemagogus Williston* (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Revista Biomédica*. , v.21, p.221 - 238, 2010.
  40. [doi](#) [MALLET, Jacenir R S Santos](#); [Müller, G.A](#); [Gleiser, R.G](#); Alencar, Jeronimo; [William De Almeida Marques](#); [Sarmiento, J.S](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#) Scanning Electron Microscopy of the Eggs of *Aedes scapularis* from Southern South America. *Journal of the American Mosquito Control Association*. [JCR](#), v.26, p.205 - 209, 2010.
  41. Alencar, Jeronimo; [SILVA, Júlia dos Santos](#); [SERRA-FREIRE, Nicolau Maués](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#) Dispersion and ecological plasticity patterns of populations of *Haemagogus capricornii* and *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. *Entomological News*. [JCR](#), v.120, p.53 - 60, 2009.
  42. [SILVA, Vanderlei Campos](#); [SERRA-FREIRE, Nicolau Maués](#); [Silva, J. S.](#); [SCHERER, P.O.](#); [Rodrigues, I.](#); [Cunha, S. P.](#); Alencar, Jeronimo Estudo comparativo entre larvitrapas e ovitrapas para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Campo

- Grande, Estado do Rio de Janeiro. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Impresso). [JCR](#), v.6, p.730 - 731, 2009.
43. [CABRAL, M. M. O](#); Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, A. E.](#); KATO, Massuo  
Larvicidal activity of grandisin from Piper solmsianum against Aedes aegypti. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.25, p.105 - 10, 2009.
  44. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [FERNÁNDEZ, Jaime Rodriguez](#); [DÉGALLIER, Nicolas](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [COSTA, Janira Martins](#); [GUIMARÃES, A. E.](#)  
Multivariate Discrimination Between Two Cryptic Haemagogus Species Associated with the Transmission of Yellow Fever Virus in the Americas. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.25, p.18 - 24, 2009.
  45. [MALLET, Jacenir R. Santos](#); Gleiser, R.G; Alencar, Jeronimo; William De Almeida Marques; [Sarmiento, J.S](#); [Müller, G.A](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#)  
Scanning Electron Microscopy of the egg Ochlerotatus albifasciatus (Macquart, 1838) (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. [JCR](#), v.46, p.980 - 985, 2009.
  46. [★](#) [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [DÉGALLIER, N.](#); HANNART, A; [SILVA, Júlia dos Santos](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
Circadian and seasonal preferences for hematophagy among Haemagogus capricornii, Hg. janthinomys, and Hg. leucocelaenus (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. Journal of Vector Ecology. [JCR](#), v.33, p.389 - 392, 2008.
  47. Alencar, Jeronimo; [PACHECO, Juliana Barreto](#); [FREIRE, Nicolau Maués Serra](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); BOSCH, Irene  
Comparative morphometric study of populations of haemagogus leucocelaenus (Dyar & Shannon, 1924) (Diptera: Culicidae) sylvatic vector of yellow fever virus in Brazil.. Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida. , v.28, p.23 - 28, 2008.
  48. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; ALMEIDA, Hosana; [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
Effect Of Multiple Immersions On Eggs And Development Of Immature Forms Of Haemagogus janthinomys From South-Eastern Brazil (Diptera: Culicidae). Entomological News. [JCR](#), v.119, p.239 - 244, 2008.
  49. [SILVA, Júlia dos Santos](#); ACEL, Anagela Maria; [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#)  
Encontro de larvas de Anopheles (Nyssorhynchus) argyritarsis em criadouros artificiais no Estado de Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. [JCR](#), v.43, p.1 - 2, 2008.
  50. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [FREIRE, Nicolau Maues da Serra](#); [LOROSA, Elias Seixas](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, A. E.](#)  
Feeding Patterns of and (Diptera: Culicidae) in Two Brazilian States (Rio de Janeiro and Goiás). Journal of Medical Entomology. [JCR](#), v.45, p.873 - 876, 2008.
  51. Alencar, Jeronimo; Castro, F.C; Monteiro, Hamilton. A.O; Orlando, V.S; [DÉGALLIER, Nicolas](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
New records of Haemagogus (Haemagogus) from Northern and Northeastern. Zootaxa (Auckland). [JCR](#), v.1779, p.65 - 68, 2008.
  52. [BALESTRA, R. A. M.](#); PEREIRA, R. K. O; RIBEIRO, M. J. S; [SILVA, Júlia dos Santos](#); Alencar, Jeronimo  
Ocorrência de Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse) em Área Urbana do Estado do Tocantins. Neotropical Entomology. [JCR](#), v.37, p.233 - 235, 2008.
  53. [ALVES, João Ricardo Carreira](#); [COSTA, Janira Martins](#); Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#)  
Ocorrência de larvas de Aedes albopictus (Skuse) (Diptera, Culicidae), em recipiente artificial, na ilha da Marambaia, Mangaratiba, RJ, Brasil. Revista de Patologia Tropical. , v.37, p.89 - 92, 2008.
  54. Alencar, Jeronimo; [DÉGALLIER, N.](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); [COSTA, Janira Martins](#); William De Almeida Marques; [SILVA, Vanderlei](#); [MALLET, Jacenir R. Santos](#)  
Scanning electron microscopy of egg of Haemagogus tropicalis (Diptera: Culicidae).. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.24, p.16 - 20, 2008.

55. [MARCONDES, Carlos Brisola](#); Alencar, Jeronimo; [BALBINO, Valdir Queiroz](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Description of three practical and non-expensive devices for the collection of mosquitoes (Diptera: Culicidae) and other small insects. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.23, p.84 - 86, 2007.
56. ANDRADE, Welton Aires; SANTOS, Anísio Tavares dos; PARENTE, Jose Antonio S.; GIL-SANTANA, Hécio R.; [BRAGANÇA, Marco Antonio L.](#); Alencar, Jeronimo  
Diversidade de Anofelinos (Diptera: Culicidae) Identificados em Área de Implantação de Hidrelétrica nas Margens do Rio Tocantins, Município de Porto Nacional, Estado do Tocantins.. Revista de Patologia Tropical. , 2006.
57. [doi>](#) [SILVA, Vanderlei C](#); [SCHERER, Paulo O](#); FALCÃO, Simone da S; Alencar, Jeronimo; [CUNHA, Sergio P](#); RODRIGUES, Iram M; PINHEIRO, Nadja L  
Diversidade de criadouros e tipos de imóveis freqüentados por Aedes albopictus e Aedes aegypti. Revista de Saúde Pública (Impresso). [JCR](#), v.40, p.1106 - 1111, 2006.
58. Alencar, Jeronimo; SILVA, Elaine Araújo; GIL-SANTANA, Hécio R.; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Levantamento de Mosquitos nas Proximidades de um lago com grande proliferação de plantas aquáticas, com possível associação de Mansonia Titillans (Walker, 1848) (Diptera: Culicidae) com a vegetação, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.. Revista Brasileira de Zootecias. , 2006.
59. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [LOROSA, Elias Seixas](#); [DÉGALLIER, Nicolas](#); FREIRE, Nicolau Maues da Serra; [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Feeding Patterns of (Diptera: Culicidae) in Different Regions of Brazil. Journal of Medical Entomology. [JCR](#), v.42, p.981 - 985, 2005.
60. Alencar, Jeronimo; [LOROSA, Elias Seixas](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [SANTANA, Hécio Reinaldo Gil](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Fontes Alimentares de Chagasia fajardi (Lutz, 1904) (Diptera:Culicidae) de diferentes regiões do Brasil. Revista Brasileira de Zootecias. , 2005.
61. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [LOROSA, Elias Seixas](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#)  
Observações sobre padrões alimentares de mosquitos (Diptera: Culicidae) no Pantanal Mato-Grossense. Neotropical Entomology (Impresso). [JCR](#), v.34, p.681 - 687, 2005.
62. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [SANTANA, Hécio Reinaldo Gil](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF EGGS OF OCHLEROTATUS (PROTOMACLEAYA) TERRENS WALKER. Journal of the American Mosquito Control Association. [JCR](#), v.21, p.355 - 359, 2005.
63. [doi>](#) [ALENCAR, Jeronimo](#); Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, A. É.](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [DÉGALLIER, Nicolas](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
Scanning Electron Microscopy Study of the Egg of Haemagogus (Haemagogus) capricornii Lutz, 1904 (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. [JCR](#), v.42, p.1 - 6, 2005.
64. [doi>](#) [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); GENTILE, C.; Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#)  
Ecology of Anopheline (Diptera, Culicidae), malaria vectors around the Serra da Mesa Reservoir, State of Goiás, Brazil: 1 - Frequency and climatic factors. Cadernos de Saúde Pública (ENSP. Impresso). [JCR](#), v.20, p.291 - 302, 2004.
65. [ALENCAR, Jeronimo](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); SIMPLICIO, J.; [SANTANA, H. R. G.](#); Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, A. É.](#)  
Utilização de armadilha ovitrampa para monitoramento de Heamagogus janthinomys(Diptera:Culicidae) em Áreas de Mata Atlântica. Entomologia y Vectores. , v.11, p.369 - 374, 2004.
66. [doi>](#) [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#); Alencar, Jeronimo  
Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil: 1 Distribuição por hábitat. Cadernos de Saúde Pública (ENSP. Impresso). [JCR](#), v.19, p.1107 - 1116, 2003.
67. [doi>](#) Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [MELLO, Rubens](#)

Pinto de; [LOPES, Catarina Macedo](#); [DÉGALLIER, N.](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#)

Microscopia eletrônica de varredura de ovos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *Revista de Saúde Pública* (Impresso). [JCR](#), v.37, p.658 - 661, 2003.

68. [SANTANA, H. R. G.](#); Alencar, Jeronimo; [JURBERG, José](#)  
Redescricao de *Beharus cylindripes* (Fabricius, 1803), com registro de ocorrência no Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Apiomerinae). *Entomologia y Vectores.* , v.8, p.185 - 192, 2001.
69. [SANTANA, H. R. G.](#); Alencar, Jeronimo  
Reduviidae da Reserva Florestal de Linhares, Espírito Santo, Brasil (Hemiptera, Heteroptera). *Revista Brasileira de Zootecias.* , v.3, p.171 - 176, 2001.
70. Alencar, Jeronimo; [CARCAVALLO, R. U.](#); [JURBERG, José](#); [SANTANA, H. R. G.](#)  
Registro de Ocorrência do *Microtriatoma borbai* Lent & Wygodziinsky, 1979 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Hemiptera-Reduviidae, Triatominae). *Entomologia y Vectores.* , v.7, p.445 - 447, 2001.
71. [SANTANA, H. R. G.](#); Alencar, Jeronimo  
Sobre o Gênero *Veseris* Stal, 1865, com *Eurylochus torre* - Bueno, 1914, como Sinônimo novo e chaves para identificação (Hemiptera, Reduviidae, Apiomerinae).. *Entomologia y Vectores.* , v.8, p.95 - 104, 2001.
72. [SANTANA, H. R. G.](#); Alencar, Jeronimo  
Descrição de *Stenolemus renatoi* sp.n (Hemiptera - Reduviidae, Emesinae).. *Entomologia y Vectores.* , v.7, p.273 - 279, 2000.
73. [LOPES, C. M.](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); [MELLO, R. P.](#); Alencar, Jeronimo  
Ecologia de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas da Reserva Biológica de Tinguá, Município de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro, I - Diversidade Faunística.. *Entomologia y Vectores.* , v.6, p.563 - 576, 1999.
74. [GUIMARÃES, A. E.](#); [MELLO, R. P.](#); [LOPES, C. M.](#); Alencar, Jeronimo; [GENTILE, C.](#)  
Prevalência de Anofelinos (Diptera: Culicidae) no Crepúsculo Vespertino em Áreas da Usina Hidrelétrica de Itaipu, no Município de Guaíra, Estado do Paraná, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Impresso). [JCR](#), v.92, p.745 - 754, 1997.

#### Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. [Sarmento, J.S](#); Alencar, Jeronimo; [MORONE, F. C.](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); [Müller, G.A](#); [Oliveira, E.M](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [MALLET, Jacenir R S Santos](#)  
Scanning Electron Microscopy of the Egg of *Ochlerotatus fluviatilis* In: XXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2011, Búzios.  
Anais do XXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise . Rio de Janeiro: , 2011.
2. [Sarmento, J.S](#); Alencar, Jeronimo; [MORONE, F. C.](#); [Müller, G.A](#); [MALLET, Jacenir R. Santos](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#)  
Scanning Electron Microscopy of the Egg of *Ochlerotatus taeniorhynchus* In: XXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2011, Búzios.  
Anais do XXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise . Rio de Janeiro: , 2011.
3. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, A. E.](#); [COSTA, Janira Martins](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
Eggs surface structure of *Haemagogus tropicalis* (Diptera: Culicidae) by scanning electron microscopy. In: Simpósio Microscopia na Amazônia, 2006, Belém. *Annais do Simpósio Microscopia na Amazônia*, 2006, Belém.  
Simpósio Microscopia na Amazônia . Belém.: , 2006. v.1.
4. [SILVA, Vanderlei](#); [PINHEIRO, Nadja L.](#); Alencar, Jeronimo; [FALCÃO, Simone S.](#); [SCHERER, Paulo O.](#); [GONÇALVES, Tereza C.](#); [MALLET, Jacenir R. Santos](#)  
Histological and Ultrastructural Observations in the Miggut of Larvae of *Aedes Albopictus* Infected with *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (BTI). In: XX Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2005, Águas de Lindóia - SP.  
*Brazilian Journal of Morphological Sciences* . , 2005.

5. Alencar, Jeronimo; [LOROSA, Elias Seixas](#); ALMEIDA, Hosana; [SILVA, Júlia dos Santos](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Observações preliminares sobre padrões alimentares de *Haemagogus capricornii* e *Hg. leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em diferentes regiões do Brasil In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005, Porto Alegre -RS., 2005, Porto Alegre -RS..  
XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005 . . , 2005.
6. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); SILVA, Edalton Reis; [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
Aspectos Histológicos de *Haemagogus janthinomys* (Diptera:Culicidae) vetor de arbovírus neotropicais In: I Congresso Norte Nordeste de Zoonoses e Bem Estar Animal, 2004, Natal.  
Anais do I Congresso Norte Nordeste de Zoonoses e Bem Estar Animal . . , 2004.
7. [SILVA, Vanderlei C](#); FALCÃO, Simone da S; Alencar, Jeronimo; [CUNHA, Sergio P](#); RODRIGUES, Iram M; [SCHERER, Paulo O](#); PINHEIRO, Nadja L  
Comportamento do *Aedes albopictus*, Associado à Diversidade de Criadouros e Imóveis no Bairro de Campo Grande, no Município do Rio de Janeiro - RJ. In: Congresso de Medicina Tropical de Tocantins, 2004, Araguaina.  
Anais do Congresso de Medicina Tropical de Tocantins . . , 2004.
8. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [DÉGALLIER, Nicolas](#); [MALLET, Jacenir R S Santos](#)  
Scanning Electron Microscopy of Eggs of *Haemagogus capricornii* lutz 1904 In: XIX Congresso da Sociedade Brasileira Microscopia e Microanálise, 2003, Caxambu.  
Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise . . , 2003.
9. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, A. E.](#); [MELLO, R. P.](#); [LOPES, C. M.](#); [DÉGALLIER, N.](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
An Ultrastructural Study of Two Cryptic Species of *Haemagogus* Mosquitoes(Diptera,Culicidae), Vectors of Sylvatic Yellow Fever in Brazil In: Microscopia e Microanálise no Mercosul - SBMM, 2002, Curitiba.  
Sociedade de Microscopia e Microanálise . . , 2002.

#### Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. Alencar , Jeronimo ; [Mello, C.F](#); GIL-SANTANA, Hélcio R.; [Guimarães, Anthony Érico](#); CASTRO, T. N.; Gleiser, R.G  
Atividade Vertical de Oviposição de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em Floresta Atlântica do Brasil, com ênfase em *Haemagogus* vetores silvestres do vírus da febre amarela In: 1 Encontro Científico REGUA, 2015, Cachoeiras de Macacu.  
Anais do 1 Encontro Científico REGUA . Cachoeiras de Macacu: . , 2015.
2. [Mello, C.F](#); FREIRE, Nicolau Maues da Serra; GIL-SANTANA, Hélcio R.; Gleiser, R.G; [Sarmiento, J.S](#); Alencar , Jeronimo  
Biodiversidade e distribuição temporal de imaturos de Culicidaeem área de Mata Atlântica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil In: 1 Encontro Científico REGUA, 2015, Cachoeiras de Macacu.  
Anais do 1 Encontro Científico REGUA . Cachoeiras de Macacu: . , 2015.
3. [ARAUJO, A. N.](#); [Mello, C.F](#); GIL-SANTANA, Hélcio R.; [Guimarães, Anthony Érico](#); ALENCAR, JERONIMO  
Acrodendrofilia de mosquitos com ênfase em *Haemagogus* (Diptera: Culicidae) vetores silvestres do vírus da febre amarela In: XXV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2014, Goiânia.  
Anais do XXV Congresso Brasileiro de Entomologia . Goiânia: . , 2014.
4. [Sarmiento, J.S](#); [MALLET, Jacenir R S Santos](#); Alencar , Jeronimo  
Microscopia Eletrônica de varredura de Ovos de *Culex* (*Melanoconion*) *bastagarius* Dyar e Knab (Diptera:Culicidae). In: 9º Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ, 2014, Seropédica.  
Anais do 9º Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ . Seropédica: UFRRJ, 2014.
5. [ARAUJO, A. N.](#); [Mello, C.F](#); GIL-SANTANA, Hélcio R.; [SILVA, Julia dos Santos](#); [Guimarães, Anthony Érico](#); [LOROSA, Elias Seixas](#); ALENCAR, JERONIMO  
Observações Sobre Padrões Alimentares de Mosquitos (Diptera: Culicidae) na Reserva Ecológica do Guapiaçu, estado Rio de Janeiro In: XXV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2014,

- Goiânia.  
Anais do XXV Congresso Brasileiro de Entomologia . Goiânia: , 2014.
6. [Mello, C.F.](#); [MALLET, Jacenir R S Santos](#); [MORONE, F. C.](#); [Guimarães, A. E.](#); Alencar , Jeronimo  
Microscopia eletrônica de varredura de ovos *Coquillettidia juxtamansonia* (Chagas, 1907) (Diptera: Culicidae) In: II Simpósio de Entomologia do Rio de Janeiro, 2013, Rio de Janeiro.  
Anais do II Simpósio de Entomologia do Rio de Janeiro . Rio de Janeiro: , 2013.
  7. [SILVA, Júlia dos Santos](#); [Couri, M](#); [GIUPPONI, A. P. L.](#); Alencar , Jeronimo  
Novos registros de ocorrência de espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) para o estado do Rio de Janeiro In: II Simpósio de Entomologia do Rio de Janeiro, 2013, Rio de Janeiro.  
Anais do II Simpósio de Entomologia do Rio de Janeiro . Rio de Janeiro: , 2013.
  8. [MORONE, F. C.](#); [Mello, C.F.](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); Alencar , Jeronimo  
Culicidae associados a entrenós de bambu, em área do Aproveitamento Hidrelétrico de Simplício, Minas Gerais – Brasil In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  9. [SILVA, Júlia dos Santos](#); [COURI, M. S.](#); Alencar , Jeronimo  
Fauna de Culicidae da Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, RJ, coletada sob a influência de diferentes cores de lâmpadas em armadilhas CDC In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  10. [Mello, C.F.](#); [MORONE, F. C.](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); Alencar , Jeronimo  
Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) associados a bromélias na reserva ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  11. Alencar, Jeronimo; [Mello, C.F.](#); [MORONE, F. C.](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [MALLET, Jacenir R S Santos](#)  
Indicadores morfológicos em asas de *Haemagogus capricornii* e *Hg. janthinomys* (Diptera, Culicidae) In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  12. Alencar, Jeronimo; [MORONE, F. C.](#); [Mello, C.F.](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
Múltiplas imersões de ovos de *Haemagogus janthinomys* e *Hg. > leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  13. [PACHECO, J. B.](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); [Mello, C.F.](#); [COSTA, Janira Martins](#); Alencar , Jeronimo  
Preferência alimentar de *Psorophora (Janthinosoma) albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae) em áreas do Pantanal Mato-Grossense In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  14. Alencar, Jeronimo; [MORONE, F. C.](#); [Mello, C.F.](#); [DÉGALLIER, Nicolas](#); [LUCIO, P. S.](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
Preferência da altura de voo para oviposição de mosquitos vetores silvestres do vírus da febre amarela (Diptera: Culicidae) em área do aproveitamento hidrelétrico de Simplício, Minas Gerais, Brasil In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba.  
Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia . Curitiba: , 2012.
  15. [Correa, F.F.](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); [FREIRE, Nicolau Maués Serra](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); Alencar , Jeronimo  
Análise dos padrões de distribuição geográfica das espécies de *Haemagogus* (Diptera: Culicidae) vetores silvestres do vírus da febre

- amarela no Brasil In: XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2010, Natal.  
Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia . Natal: , 2010.
16. [SILVA, Júlia dos Santos](#); Alencar, Jeronimo; [FREIRE, Nicolau Maues da Serra](#); [COSTA, Janira Martins](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, A. E.](#)  
Biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) em seis áreas brasileiras de preservação ambiental In: XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2010, Natal.  
Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia . Natal: , 2010.
17. [PACHECO, Juliana Barreto](#); Alencar, Jeronimo; [SILVA, Júlia dos Santos](#); [COSTA, Janira Martins](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
Bionomia de *Psorophora (Janthinosoma) albigena* Lutz, 1908 (Diptera: Culicidae) em áreas do Pantanal MatoGrossense In: XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2010, Natal.  
Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia . Natal: , 2010.
18. [SILVA, Júlia dos Santos](#); Alencar, Jeronimo; [LOROSA, Elias Seixas](#); [COSTA, Janira Martins](#); [GUIMARÃES, A. E.](#)  
Padrões alimentares de mosquitos (Diptera: Culicidae) de seis áreas brasileiras de preservação ambiental In: XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2010, Natal.  
Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia . Natal: , 2010.
19. Alencar, Jeronimo; [FERREIRA, Zenir Mello](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [FREIRE, Nicolau Maués Serra](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
BIODIVERSITY AND TIMES OF ACTIVITY OF MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) IN THE BIOME OF THE ATLANTIC FOREST IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL. In: I Simpósio Nacional de Taxonomia e Biodiversidade, 2009, Rio de Janeiro.  
Anais I Simpósio Nacional de Taxonomia e Biodiversidade . Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2009.
20. [MALLET, Jacenir R. Santos](#); Gleiser, R.G; [Müller, G.A](#); Alencar, Jeronimo; William De Almeida Marques; [Sarmiento, J.S](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#)  
EGG SURFACE STRUCTURE OF *Ochlerotatus albifasciatus* (Macquart) and *Ochlerotatus* (Rodani, 1848) (Diptera: Culicidae) by scanning electron microscopy (SEM) In: XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia & II Encontro de Parasitologia do Mercosul, 2009, Foz do Iguaçu.  
ANAIS DO XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do Mercosul . , 2009. v.38. p.1103 - 1103
21. Alencar, Jeronimo; [FREIRE, Nicolau Maues da Serra](#); [OLIVEIRA, Renata de Freitas Nunes de](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
IMMATURE FORMS OF MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) IN AREAS OF THE SERRA DO MAR STATE PARK, STATE OF SÃO PAULO In: I Simpósio Nacional de Taxonomia e Biodiversidade, 2009, Rio de Janeiro.  
Anais I Simpósio Nacional de Taxonomia e Biodiversidade . Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2009.
22. Alencar, Jeronimo; [FREIRE, Nicolau Maués Serra](#); [MARCONDES, Carlos Brisola](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [Correa, F.F](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#)  
INFLUENCE OF CLIMATIC FACTORS ON THE POPULATION DYNAMICS OF *HAEMAGOGUS JANTHINOMYS* (DIPTERA: CULICIDAE), A VECTOR OF SYLVATIC YELLOW FEVER In: I Simpósio Nacional de Taxonomia e Biodiversidade, 2009, Rio de Janeiro.  
Anais I Simpósio Nacional de Taxonomia e Biodiversidade . Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2009.
23. [PACHECO, Juliana Barreto](#); [GUIMARÃES, Anthony Erico](#); Almeida GL; Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#)  
Desenvolvimento de imaturos de mosquitos (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório In: XXII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2008, Uberlândia.  
Anais do XXII Congresso Brasileiro de Entomologia . , 2008.
24. ALENCAR, JERONIMO

- Aspectos da Ecologia de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do aproveitamento hidrelétrico Peixe, Estado do Tocantins, Brasil In: V Bienal de Pesquisa, 2006, Rio de Janeiro.  
Anais V Bienal de Pesquisa . RIO DE JANEIRO: FIOCRUZ, 2006.
25. Alencar, Jeronimo; RODRÍGUES-FERNÁNDEZ, Jaime; DÉGALLIER, Nicolas; SERRA-FREIRE, Nicolau Maués; MELLO, Rubens Pinto de; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Discriminação Morfométrica entre duas espécies crípticas de *Haemagogus* Williston, 1896 e (Diptera:Culicidae). In: Congresso Brasileiro de Zoologia, 2006, Londrina.  
. , 2006.
  26. ANDRADE, Welton Aires; PACHECO, Juliana Barreto; RODRIGUES FILHO, Augusto; SANTOS, Anisio Tavares dos; SOUZA, José Antonio de; Alencar , Jeronimo  
Diversidade de culicídeos (Diptera: Culicidae) nos municípios de São Bento e Porto Alegre, estado do Tocantins In: XXI Congresso Brasileiro de Entomologia, 2006, Recife.  
. , 2006.
  27. Alencar, Jeronimo; COSTA, Janira Martins; SERRA-FREIRE, Nicolau Maués; LOPES, Catarina Macedo; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Estudo da distribuição geográfica de *Haemagogus capricornii* Lutz 1904, e *Hg. janthinomys* Dyar 1921 (Diptera:Culicidae) no Brasil In: XXI Congresso Brasileiro de Entomologia, 2006, Recife.  
. , 2006.
  28. ANDRADE, Welton Aires; RODRIGUES FILHO, Augusto; SILVA, Júlia dos Santos; AMORIM, Marinete; PACHECO, Juliana Barreto; Alencar , Jeronimo  
Mosquitos (Diptera: Culicidae) Vetores Potenciais de Bioagentes das Áreas de Influências da Barragem Eixo III Rio Manuel Alves, Estado do Tocantins, Brasil In: XLII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2006, Teresina.  
Anais Sociedade Brasileira de Medicina Tropical . , 2006.
  29. Alencar, Jeronimo; COSTA, Janira Martins; ALMEIDA, Hosana Moura de; MARCONDES, Carlos Brisola; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Observações preliminares sobre a eclodibilidade de *Haemagogus janthinomys* DYAR 1921 (DIPTERA: CULICIDAE) coletados em área de Mata Atlântica do estado do Espírito Santo XXI Congresso Brasileiro de Entomologia OBSERVAÇÕES PRELIMINARES SOBRE A ECLODIBILIDADE DE *Haemagogus janthinomys* DYAR 1921 (DIPTERA: CULICIDAE) COLETADO EM ÁREAS DE MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO In: XXI Congresso Brasileiro de Entomologia, 2006, Recife.  
. , 2006.
  30. SILVA, Júlia dos Santos; GIL-SANTANA, Hélcio R.; ZERAIK, Soraya O.; Alencar , Jeronimo  
Variação da morfologia externa dos adultos de *Culex* (*Microculex*) *Pleuristriatus* THEOBALD, 1903 (DIPTERA: CULICIDAE) In: XXI Congresso Brasileiro de Entomologia, 2006, Recife.  
. , 2006.
  31. CABRAL, Patrícia C.; Alencar, Jeronimo; GUIMARÃES, Anthony Érico; GAZETA, Gilberto S.  
*Arrenurus* sp. (Acari: Actiniedida: Parasitengona) em mosquitos do Parque Nacional do Iguaçu, estado do Paraná, Brasil In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005, 2005, Porto Alegre - RS..  
. , 2005.
  32. Alencar, Jeronimo; SILVA, Elaine Araújo; PACHECO, Juliana Barreto; GIL-SANTANA, Hélcio R.; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Desequilíbrio em flora aquática como causa de ocorrência de surto de *Mansonina titillans* (walker, 1848) (Diptera: Culicidae) no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. In: VII Congresso de Ecologia do Brasil, 2005, Caxambu - MG, 2005, Caxambu - MG..  
. , 2005.
  33. Alencar, Jeronimo; SILVA, Júlia dos Santos; PACHECO, Juliana Barreto; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Levantamento preliminar de formas imaturas de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Aproveitamento Hidrelétrico Peixe - TO In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005, , Porto Alegre - RS..  
. , 2005.
  34. MALLET, Jacenir R Santos; GUIMARÃES, Anthony Érico; SILVA, Edalton Reis; Alencar , Jeronimo

- Observações Histológicas e Ultraestruturais no Aparelho Digestivo de *Haemagogus leucocelaenus* e *Hg. janthinomys* (Diptera:Culicidae) Vetores de Arbovírus Neotropicais In: XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e Primeiro Encontro de Medicina Tropical do Cone Sul, 2005, Florianópolis. Anais da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Uberaba: Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2005. v.38. p.3 - 541
35. [LOROSA, Elias Seixas](#); FARIAS, Mariana S.; ANDRADE, Regina; [JURBERG, José](#); Alencar, Jeronimo  
Perfil alimentar de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) em área de Mata Atlântica do estado de Santa Catarina In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005, Porto Alegre -RS., 2005, Porto Alegre -RS., 2005.
36. [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); Alencar, Jeronimo; [SILVA, Júlia dos Santos](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); OLIVEIRA, Márcio Sacramento de; [MELLO, Rubens Pinto de](#)  
Aspectos da Ecologia de Mosquitos (Diptera:Culicidae) em Áreas do Aproveitamento Hidrelétrico Peixe, Estado de Tocantins, Brasil - Subsídios a medidas de controle In: IV Bienal de Pesquisa da Fiocruz, 2004, Rio de Janeiro. Anais da IV Bienal de Pesquisa. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2004.
37. SILVA, J. S.; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [MELLO, R. P.](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#)  
Aspectos da Ecologia de Mosquitos (Diptera:Culicidae) no Parque Nacional de Itatiaia In: XXV Congresso Brasileiro de Zoologia, 2004, Brasília. Anais da Sociedade Brasileira de Zoologia. , 2004.
38. [LOPES, Catarina Macedo](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); FERREIRA, Zenir Mello; Alencar, Jeronimo; [MELLO, Rubens Pinto de](#)  
Aspectos sobre a preferência horária para hematofagia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas da Reserva Biológica do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro, Brasil In: IV Encontro de Pesquisadores da Reserva Biológica do Tinguá, 2004, Rio de Janeiro. Anais de Resumos da Reserva Biológica Tinguá. , 2004.
39. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
Descrição por microscopia eletrônica de varredura de ovos de *Haemagogus capricornii* e *Hg. leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) vetores silvestre de febre amarela, provenientes da Reserva Biológica de Tinguá. In: IV Encontro de Pesquisadores da Reserva Biológica do Tinguá, 2004, Rio de Janeiro. Anais do IV Encontro de Pesquisadores da Reserva de Tinguá. , 2004.
40. [SANTANA, Hécio Reinaldo Gil](#); [LOROSA, Elias Seixas](#); Alencar, Jeronimo  
Evidência indireta de hematofagismo em aves por veseris bellator(Torre-Bueno) (Himiptera:Reduviidae;Sphaeridopinae) In: IV Bienal de Pesquisa da Fiocruz, 2004, Rio de Janeiro. Bienal de Pesquisa da Fiocruz. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2004.
41. Alencar, Jeronimo; [LOROSA, Elias Seixas](#); [SILVA, Júlia dos Santos](#); [MALLET, Jacenir R Santos](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Hábito Alimentar de *Chagasia fajardi* (Diptera: Culicidae) de diferentes regiões do Brasil In: I Congresso Norte Nordeste de Zoonoses e Bem Estar Animal, 2004, Natal. Anais I Congresso Norte Nordeste de Zoonoses e Bem Estar Animal. , 2004.
42. Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#); [LOROSA, Elias Seixas](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#); BARBOSA, P.; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#)  
Hábito Alimentar de *Haemagogus janthinomys* (Diptera: Culicidae) em Área de Mata Atlântica do Estado da Bahia In: 20 Congresso Brasileiro de Entomologia, 2004, Gramado. Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil. , 2004.
43. [LOROSA, Elias Seixas](#); CASTRO, Paulo de; FARIA, Mariana Santos; ANDRADE, Regina Esteves de; Alencar, Jeronimo; [JURBERG, José](#)  
Hábitos Alimentares de Mosquitos do Município de Conceição de Macabu-RJ In: I Congresso Norte Nordeste de Zoonoses e Bem

- Estar Animal, 2004, Natal.  
Anais do Congresso Zoonoses e Bem Estar Animal . . , 2004.
44. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); OLIVEIRA, M. S.; [MALLET, Jacenir R Santos](#)  
Microscopia Eletrônica de Varrredura de ovos de ochlerotatus terrenus(Diptera:Culicidae) In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 2004, Gramado.  
Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil . . , 2004.
45. Alencar, Jeronimo; [ALENCAR, J.](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [LOROSA, Elias Seixas](#); SILVA, J. S.; [LOPES, Catarina Macedo](#)  
O Uso da Técnica de Preciptina na Avaliação das Preferências Alimentares de Mosquitos do Pantanal Matogrossense (MT) In: XXV Congresso Brasileiro de Zoologia, 2004, Brasília.  
Anais da Sociedade zoologia do Brasil . . , 2004.
46. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); SILVA, Edalton Reis; [MALLET, Jacenir R S Santos](#)  
Observações Histológicas e Ultraestruturais no aparelho digestivo de Haemagogus leucocelaenus e Hg. janthinomys (Diptera:Culicidae) vetores de arbovirus neotropicais. In: IV Biental de Pesquisa da Fiocruz, 2004, Rio de Janeiro.  
IV Biental de Pesquisa da Fiocruz . . , 2004.
47. Alencar, Jeronimo; [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [SANTANA, H. R. G.](#); [LOPES, Catarina Macedo](#); [PACHECO, Juliana Barreto](#)  
Utilização de Armadilha Ovitrapa na Coleta de Haemagogus janthinomys(Diptera:Culicidae) em Área de Mata Atlântica In: XXV Congresso Brasileiro de Zoologia, Brasília.  
. . , 2004.
48. Alencar, Jeronimo; [DÉGALLIER, N.](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); NOIREAU, F; [PACHECO, R. S.](#); [MELLO, R. P.](#); [LOPES, C. M.](#)  
Análise morfométrica preliminar entre populações de Haemagogus janthinomys(Diptera: Culicidae) In: 19 Congresso Brasileiro de Entomologia (19 CBE), 2002, Manaus - AM.  
. . , 2002.
49. Alencar, Jeronimo; [LOPES, C. M.](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); NOIREAU, F; [PACHECO, R. S.](#); [MENEZES, S. S.](#)  
Ausência da diferenciação Isoenzimática entre Haemagogus capricornii e Hg. janthinomys (Diptera: Culicidae) In: 19 Congresso Brasileiro de Entomologia (19CBE), 2002, Manaus.  
Sociedade Brasileira de Entomologia . . , 2002.
50. [GUIMARÃES, A. É.](#); Alencar, Jeronimo; [LOPES, Catarina Macedo](#); [MELLO, Rubens Pinto de](#); [GENTILE, C.](#)  
Ecologia de Anofelinos (Diptera:Culicidae) em áreas sob influência direta Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa. In: III Biental de Pesquisa da FIOCRUZ, 2002, Rio de Janeiro.  
III Biental de Pesquisa . Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002.
51. Alencar, Jeronimo; [SANTANA, H. R. G.](#); [ALENCAR, Jeronimo](#); COSTA, L. A. A.  
Estudos em Sphaeridopinae (Hemiptera,Reduviidae) In: III Biental de Pesquisa da FIOCRUZ, 2002, Rio de Janeiro.  
Anais da III Biental de Pesquisa . Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002.
52. [SANTANA, H. R. G.](#); Alencar, Jeronimo; [LOPES, C. M.](#); COSTA, L. A. A.  
Guia Ilustrado para os gêneros de Apiomerinae (Hemiptera-Heteroptera: Reduviidae) In: 19 Congresso Brasileiro de Entomologia ( 19CBE), 2002, Manaus - AM.  
. . , 2002.
53. Alencar, Jeronimo; [MELLO, R. P.](#); SILVA, J. A.; [LOPES, Catarina Macedo](#); [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); [ALENCAR, Jeronimo](#); [QUEIROZ, M. M. C.](#)  
Levramento de Dípteros Califorídeos (Diptera:Calliphoridae) coletado na Reserva Biológica do Tinguá, Município de Nova Iguaçu, RJ, Brasil In: III Biental de Pesquisa da FIOCRUZ, 2002, Rio de Janeiro.  
Anais da III Biental de Pesquisa . Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002.
54. Alencar, Jeronimo; [MALLET, Jacenir R Santos](#); [GUIMARÃES, A. E.](#); [MELLO, R. P.](#); [DÉGALLIER, N.](#)  
Observações ao Microscópio Eletrônico de Verredura dos ovos de Haemagogus capricornii e Hg. leucocealenus (Diptera:Culicidae) In: III Biental de Pesquisa da FIOCRUZ, 2002, Rio de Janeiro.  
. . , 2002.
55. [GUIMARÃES, Anthony Érico](#); Alencar, Jeronimo; [LOPES, Catarina](#)

Macedo; MELLO, Rubens Pinto de

Ecologia de Anofelinos(Diptera:Culicidae), em áreas sob influência direta da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa (GO), Brasil.Problemas relacionados à densidade e controle. In: VII Reunião Nacional de Pesquisa em Malária, 2000, Rio de Janeiro. . , 2000.

56. LOPES, Catarina Macedo; GUIMARÃES, A. E.; MELLO, Rubens Pinto de; Alencar , Jeronimo  
Ecology of Mosquitoes (Diptera:Culicidae) in Areas of the Biological Reserve of Tinguá, in the County of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro, Brazil. IFaunistic Diversity In: Congresso Latino Americano de Parasitologia In: Congresso Latino Americano de Parasitologia, 1999, Acapulco.  
Anais da Sociedade Latino Americana de Parasitologia. . . . .  
Acapulco: , 1999.
57. Alencar, Jeronimo; LOPES, C. M.; GUIMARÃES, A. E.; MELLO, R. P.; GENTILE, C.  
Observações Ecológicas sobre a fauna de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas de influência In: 4 Congresso de Ecologia do Brasil, 1998, Belém - PA.  
 . , 1998.
58. GUIMARÃES, A. E.; MELLO, R. P.; LOPES, C. M.; Alencar , Jeronimo  
Aspectos Preliminares sobre Ecologia de Mosquitos (Diptera : Culicidae) Vetores Potenciais de Doenças Humanas em áreas de Influências da Usina Hidrelétrica da Serra da Mesa, Minaçu, Estado Goiás, Brasil. In: XV Congresso Brasileiro de Parasitologia, 1997, Salvador - BA.  
 . , 1997.

#### Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. Alencar, Jeronimo; PACHECO, Juliana Barreto; GUIMARÃES, Anthony Erico; BOSCH, Irene; MALLET, Jacenir R. Santos  
EGGS SURFACE STRUCTURE OF Psorophora albigena (DIPTERA: CULICIDAE) BY In: XXII Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2009, Belo Horizonte.  
Anais do XXII Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise . Rio de Janeiro: , 2009. p.1 - 98
2. Narciso J; Nogueira CD; CABRAL, M. M. O; Alencar, Jeronimo; GUIMARÃES, Anthony Erico; KATO, Massuo  
Burchelina: Uma neolignana com atividade larvicida sobre Aedes aegypti Linnaeus, 1762 (Díptera: Culicidae) In: Brazilian Conference on Natural Products, 2007, São Paulo.  
1st. Brazilian Conference on Natural Products and XXVII Reunião Anual sobre evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares . Belém: , 2007. v.59. p.13 - 13
3. Alencar, Jeronimo; FREIRE, Nicolau Maues da Serra; SILVA, Júlia dos Santos; MALLET, Jacenir R Santos; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Estudo Morfométrico Comparativo de Populações de Chagasia fajardi do Brasil (Diptera: Culicidae) In: II CONGRESSO DE PESQUISA CIENTÍFICA, 2004, Rio de Janeiro.  
Anais do II Congresso de Pesquisa Científica . . , 2004.
4. Alencar, Jeronimo; FREIRE, Nicolau Maues da Serra; PACHECO, Juliana Barreto; GUIMARÃES, Anthony Érico  
Estudo Morfométrico Comparativo de Populações de Haemagogus leucocelaenus (Diptera: Culicidae) Vetor Silvestre da Febre Amarela no Brasil. In: II CONGRESSO DE PESQUISA CIENTÍFICA DA UFRRJ, 2004, Rio de Janeiro.  
Anais do II Congresso de Pesquisa Científica - UFRRJ . . , 2004.

#### Produção técnica

##### Demais produções técnicas

1. Alencar , Jeronimo  
Biodiversidade e análise da distribuição espacial e temporal da fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Parque Estadual dos Três Picos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil' , 2017. (Relatório de pesquisa)
2. HONORIO, N.; REIS, I.; Alencar , Jeronimo  
Determinantes Ecológicos da Dinâmica das Doenças

- Transmitidas por Vetores , 2016. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
3. Alencar , Jeronimo  
Determinantes Ecológicos da Dinâmica das Doenças Transmitidas por vetores , 2016. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  4. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Geral , 2016. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  5. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2016. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  6. ALENCAR, JERONIMO  
Insetos Vetores de Doenças Infecciosas e Parasitárias , 2016. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  7. ALENCAR, JERONIMO  
Introdução a ecologia de insetos , 2016. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  8. [Mello, C.F](#); Alencar , Jeronimo  
Qualificação Profissional em Vigilância em Saúde Ambiental com ênfase em Riscos Biológicos , 2016. (Aperfeiçoamento, Curso de curta duração ministrado)
  9. Alencar , Jeronimo  
Bionomia de insetos Diptera , 2015. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  10. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia geral , 2015. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  11. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2015. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  12. [Mello, C.F](#); Alencar , Jeronimo  
Qualificação Profissional em Vigilância em saúde Ambiental com Ênfase em Riscos Biológicos. , 2015. (Aperfeiçoamento, Curso de curta duração ministrado)
  13. ALENCAR, JERONIMO  
Bionomia de insetos Diptera , 2014. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  14. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Geral , 2014. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  15. ALENCAR, JERONIMO  
Seleção Doutorado , 2013. (Outra produção técnica)
  16. ALENCAR, JERONIMO  
Seleção Doutorado , 2013. (Outra produção técnica)
  17. ALENCAR, JERONIMO  
Seleção Doutorado , 2013. (Outra produção técnica)
  18. ALENCAR, JERONIMO ; [MALLET, Jacenir R S Santos](#)  
Vetores de doenças infecciosas , 2013. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  19. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2012. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  20. Alencar , Jeronimo  
Bionomia de inseto Diptera do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e saúde , 2011. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  21. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2011. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  22. Alencar , Jeronimo  
Curso Técnico de Pesquisa Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz , 2010. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  23. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2010. (Especialização, Curso de curta

- duração ministrado)
24. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2009. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  25. ALENCAR, JERONIMO  
Noções Básicas de Artrópodes de Importância Médica - FEBRE AMARELA , 2009. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  26. Alencar, Jeronimo; SILVA, J. S.; GUIMARÃES, A. E.  
Cartilha Educativo Sanitária - Os vetores e as doenças no Tocantins , 2008. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional)
  27. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2008. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  28. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2007. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  29. ALENCAR, JERONIMO ; Guimaraes, Anthony Érico  
Curso de Capacitação em Entomologia e Malacologia , 2006. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  30. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2005. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  31. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2004. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  32. ALENCAR, JERONIMO ; LOPES, Catarina Macedo  
Treinamento básico para captura, acondicionamento, transporte, montagem e identificação de culicídeos adultos (forma alada) , 2004. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  33. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2003. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  34. ALENCAR, JERONIMO ; MALLET, Jacenir R S Santos  
Seminários de Entomologia , 2003. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
  35. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2002. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  36. ALENCAR, JERONIMO  
Entomologia Médica , 2001. (Especialização, Curso de curta duração ministrado)
  37. Alencar, Jeronimo; ALENCAR, J.  
Curso de Controle e Vigilância da Dengue , 1990. (Extensão, Curso de curta duração ministrado)

## Orientações e Supervisões

---

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Dissertações de mestrado : orientador principal

1. Jean Ricardo Jules. Aspectos ecológicos de Anopheles do subgênero Nyssorhynchus (Diptera: Culicidae) no município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro: área de Mata Atlântica receptiva e vulnerável para malária . 2017. Dissertação (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz
2.    
 ALINE TÁTILA FERREIRA. Biologia de Haemagogus leucocelaenus (Diptera: Culicidae) em fragmento florestal urbano do Rio de Janeiro, estado Rio de Janeiro, Brasil . 2017. Dissertação (Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

3.  Cecília Ferreira de Mello. Bioecologia e Vigilância Entomológica de Mosquitos (Diptera: Culicidae) na área da Reserva Biológica de Poço das Antas, Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro . 2017. Dissertação (Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
4.  Rodrigo Gredilha. Biodiversidade de Culicidae e Caracterização de Possíveis Áreas de Risco de Doenças Humanas em áreas de preservação de Mata Atlântica do Parque Natural Municipal de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil . 2014. Dissertação (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz

#### Dissertações de mestrado : co-orientador

1.  Juliana Soares Sarmento. Ultraestrutura dos ovos de mosquitos do gênero Ochlerotatus (Diptera: Culicidae) . 2013. Dissertação (Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

#### Teses de doutorado : orientador principal

1.   Juliana Soares Sarmento. Biodiversidade de Culicidae em área de preservação de Mata Atlântica da Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro . 2017. Tese (Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

#### Monografias de conclusão de curso de aperfeiçoamento/especialização

1. Fernanda Christina Morone. OBSERVAÇÕES SOBRE A INFLUÊNCIA DE FATORES CLIMÁTICOS NAS POPULAÇÕES DE Haemagogus e Sabethes (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES DE FEBRE AMARELA SILVESTRE. 2014. Monografia (Especialização em Entomologia) - Fundação Oswaldo Cruz
2. Juliana Soares Sarmento. Estudos morfológicos de ovos de Ochlerotatus albifasciatus (Diptera: Culicidae) através da técnica de microscopia eletrônica de varredura . 2013. Monografia (Especialização em Entomologia) - Fundação Oswaldo Cruz
3. Viviane Soares de Mello. Avaliação da riqueza de mosquitos (Diptera: Culicidae) utilizando dois métodos de amostragens, em área do Aproveitamento Hidrelétrico de Simplício, Minas Gerais - Brasil . 2012. Monografia (Especialização em Entomologia) - Fundação Oswaldo Cruz
4. Renata Freitas Nunes de Oliveira. Imaturos de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Parque Estadual da Serra do Mar, Estado de São Paulo, Brasil . 2012. Monografia (Especialização em Entomologia) - Fundação Oswaldo Cruz
5. Fabiana Fagundes Correa. ANÁLISE PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES DE HAEMAGOGUS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES SILVESTRES DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA NO BRASIL. . 2010. Monografia (Especialização em Entomologia) - Fundação Oswaldo Cruz
6. Hosana Moura de Almeida. Taxa de Eclosão de ovos de Haemagogus janthinomys Dyar , 1921 (Diptera: Culicidae) de áreas de mata Atlântica no estado do Espírito Santo, Brasil, submetidos a múltiplas imersões. . 2008. Monografia (Entomologia Médica) - Fundação Oswaldo Cruz

#### Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1.  Cecília Ferreira de Mello. BIODIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DE IMATUROS DE CULICIDAE EM ÁREA DE MATA ATLÂNTICA, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL . 2015. Curso (Ciências Biológicas) - Faculdade São José
2.  Daniele Aguiar Maia. DIVERSIDADE DE CULICIDAE DE HÁBITO ACRODENDRÓFILO, COM ÊNFASE EM HAEMAGOGUS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES SILVESTRES DO VÍRUS DA

FEBRE AMARELA . 2015. Curso (Ciências Biológicas) - Faculdade São José

3.  Fernanda Christina Morone Rodrigues. CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DE HAEMAGOGUS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES SILVESTRES DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA NO BRASIL . 2013. Curso (Ciências Biológicas) - Universidade Gama Filho

#### Iniciação científica

1.  Thaiuana Neves Castro. "Biodiversidade de insetos das famílias Culicidae (Diptera) (Hemiptera), no Estado do Rio de Janeiro". . 2014. Iniciação científica (Ciências Biológicas) - Universidade Veiga de Almeida
2. Juliana Barreto Pacheco. Hábito Alimentar de Haemagogus janthinomys (Diptera: Culicidae) em diferentes regiões do Brasil . 2003. Iniciação científica (Ciências Biológicas) - Fundação Oswaldo Cruz

#### Orientações e supervisões em andamento

##### Dissertações de mestrado : orientador principal

1.  Daniele A Maia. ECOLOGIA E COMPORTAMENTO DE MOSQUITOS DE DOSSEL (DIPTERA: CULICIDAE) COM ÊNFASE HAEMAGOGUS, EM ÁREA DE FRAGMENTO DE FLORESTA ATLÂNTICA DO BRASIL . 2017. Dissertação (Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
2.  SHAYENNE OLSSON F. SILVA. BIODIVERSIDADE E INTERAÇÕES ECOLÓGICAS DE HAEMAGOGUS (DIPTERA: CULICIDAE) NAS SITUAÇÕES DE RISCO DE TRANSMISSÃO DE ARBOVIROSES NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO . 2016. Dissertação (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz

##### Dissertações de mestrado : co-orientador

1.  Thamis Almeida Balthazar. ECOLOGIA E VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE), COM AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ARBOVIROSES, EM ÁREA DE MATA ATLÂNTICA, ESTADO DO RIO DE JANEIRO . 2016. Dissertação (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz

##### Teses de doutorado : orientador principal

1.   Cecilia Ferreira de Mello. AVALIAÇÃO DO PADRÃO DE DISPERSÃO DE MANSONIA spp. (DIPTERA: CULICIDAE) EM ÁREA DO APROVEITAMENTO HIDRELÉTRICO NA AMAZÔNIA - UHE JIRAU . 2017. Tese (Biologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
2.  Jean Ricardo Jules. Bioecologia de Anopheles Meigen, 1818 (Diptera: Culicidae) no Município de Ile-à-Vache (Haiti): estudos entomológicos para a vigilância da eliminação da malária . 2017. Tese (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz
3.  ALEXANDRE DE ARAUJO OLIVEIRA. ESTUDO DA DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE VETORES DA FEBRE AMARELA SILVESTRE EM ÁREA EPIZOÓTICA DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL . 2017. Tese (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz
4.  William de Almeida Marques. Ações de educação em saúde em dengue e malária associadas ao estudo da eco-biologia dos mosquitos vetores nas regiões norte e sudeste do Brasil . 2014. Tese (Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz

##### Monografias de conclusão de curso de aperfeiçoamento/especialização

1. Dayane Barbosa de Vasconcelos. Diversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Itatiaia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil . 2017. Monografia (Especialização em Entomologia) - Fundação Oswaldo Cruz

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 07/11/2017 às 11:29:39.